JUSTUS LIEBIGS

ANNALEN DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON

HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

BAND 561

MIT 16 FIGUREN IM TEXT

1949

VERLAG CHEMIE · GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.

P. 105/49/I

P. 312/59

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten. Copyright 1949 by Verlag Chemie, GmbH. (Geschäftsführer Eduard Kreuzhage), Weinheim/Bergstr.
Printed in Germany. Druck: G. Braun GmbH., Karlsruhe i. B.

Inhalt des 561. Bandes

Günther Endres, Hertha Bumbacher und Ellen Rohr, Über die Zellatmungsgröße aerober Bakterien 1

Hans Herloff Inhoffen, Ferdinand Bohlmann und Käthe Bartram, Synthesen in der Carotinoid-Reihe, I. Kondensationen von β-Jonon und homologen Ketonen mit Oxalester. (Mit 4 Figuren im Text) 13

Hans Herloff Inhoffen, Horst Pommer und Ferdinand Bohlmann, Synthesen in der Carotinoid-Reihe, II. Über die Synthese eines Kohlenwasserstoffes $C_{70}H_{42}$ 26

Oskar Süs, Synthetische Versuche in der Penicillin-Reihe (II). Versuche zum synthetischen Aufbau des Penicillin-Gerüstes 31

Theodor Wieland, Edgar Fischer und Franz Moewus, Natriumskatylsulfonat, ein Antagonist von Heteroauxin beim Wurzelwachstum. (Mit 1 Figur im Text) 47

Max Bockmühl und Gustav Ehrhart, Über eine neue Klasse von spasmolytisch und analgetisch wirkenden Verbindungen, I 52

Th. Wagner-Jauregg, Äthylen-rhodanhydrin 87

Wilhelm Franke, Heinrich Rügge und Klaus Gäbelein, Zur Dehydrierung der gesättigten Fettsäuren. (Mit 2 Figuren im Text) 98

Karl Winterfeld und Leonard Hugo Bijl, Viscotoxin; ein neuer Inhaltsstoff der Mistel (Viscum album L) 107

Theodor Wieland, Curt Vogelbach und Hans-Joachim Bielig, Das Verhalten der Aminosäuren gegenüber Natriumchlorit und ihre quantitative Desaminierung mit Hypochlorit. (Mit 1 Figur im Text) 116

Hans-Joachim Bielig, Curt Vogelbach und Theodor Wieland, Eine acidimetrische Methode zur Bestimmung von Hypochlorit und ihre Anwendung bei der Analyse von Chloritpräparaten. (Mit 2 Figuren im Text) 123

Paul Rabe, Einwirkung von Phosphorbromid auf China-Alkaloide; Umwandlung von China-Alkaloiden in hetero-China-Alkaloide; Erweiterung des Chinuclidin-Ringes und ihre Umkehrung 132

Paul Rabe, Karl Dussel und Renate Guttmann, Spaltung der Halogenalkylate von China-Alkaloiden in Äthylenoxyde 159

Wilhelm Treibs und Hilmar Bast, Über acylierende Oxydation von Cycloolefinen und -ketonen mit Mercurisalzen 165

Hans Heinrich Schlubach und Ilse Huchting, Untersuchungen über Fructoseanhydride XXV. Über das Pyrosin. 173

Hans Heinrich Schlubach und Erwin Rathje, Untersuchungen über Fructoseanhydride XXVI. Über das Kritesin 180

Karl Winterfeld und Melanie Rink, Über die Konstitution des Viscotoxins 186

Rolf Huisgen, Heinrich Wieland und Heinz Eder, Abbauversuche an quartären Salzen des Vomicins und Desoxyvomicins. Über Strychnos-Alkaloide XXXIII 193

Johann Heinrich Helberger, Seyit Ulubay und Halidun Civelekoglu, Ein einfaches Verfahren zur Gewinnung von α-Angelica-lacton und über die hydrierende Spaltung sauerstoffhaltiger Ringe 215

E. Pfeil, Über die Sandmeyersche Reaktion I. Die Bildung von Phenolen und Halogenbenzolen bei der Zersetzung der Diazoniumhalogenide. (Mit 2 Figuren im Text) 220

Carl Martius, Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyklus durch Fluoressigsäure 227

Friedrich Kiermeier, Zur manometrischen Bestimmungsmethode der Pektase. (Mit 4 Figuren im Text) 232

Berichtigungen 238

Alphabetisches Autorenregister

Bartram, Käthe, siehe Hans Herloff Inhoffen und Ferdinand Bohlmann.
Bast, Hilmar, siehe Wilhelm Treibs
Bielig, Hans-Joachim, Curt Vogelbach und Theodor Wieland, 123.
Bielig, Hans-Joachim, siehe Theodor Wieland und Curt Vogelbach.
Bijl, Leonard Hugo, siehe Karl Winterfeld.
Bockmühl, Max und Gustav Ehrhart, 52.
Bohlmann, Ferdinand, siehe Hans Herloff Inhoffen und Käthe Bartram.
Bumbacher, Hertha, siehe Günther Endres und Ellen Rohr.
Civelekoglu, Halidun, siehe Johann Heinrich Helberger und Seyit Ulubay.
Dussel, Karl, siehe Paul Rabe und Renate Teske-Guttmann.
Eder, Heinz, siehe Rolf Huisgen und Heinrich Wieland.
Ehrhart, Gustav, siehe Max Bockmühl.
Endres, Günther, Hertha Bumbacher und Ellen Rohr, 1.
Fischer, Edgar, siehe Theodor Wieland und Franz Moewus.
Franke, Wilhelm, Heinrich Rügge und Klaus Gäbelein, 98.
Gäbelein, Klaus, siehe Wilhelm Franke und Heinrich Rügge.
Helberger, Johann Heinrich, Seyit Ulubay und Halidun Civelekoglu, 215.
Huchting, Ilse, siehe Hans Heinrich Schlubach.
Huisgen, Rolf, Heinrich Wieland und Heinz Eder, 193.
Inhoffen, Hans Herloff, Ferdinand Bohlmann und Käthe Bartram, 13.
Kiermeier, Friedrich, 232.
Martius, Carl, 227.
Moewus, Franz, siehe Theodor Wieland und Edgar Fischer.
Pfeil, E., 220.
Rabe, Paul, 132.
Rabe, Paul, Karl Dussel und Renate Teske-Guttmann, 159.
Rathje, Erwin, siehe Hans Heinrich Schlubach.
Rink, Melanie, siehe Karl Winterfeld.
Rohr, Ellen, siehe Günther Endres und Hertha Bumbacher.
Rügge, Heinrich, siehe Wilhelm Franke und Klaus Gäbelein.
Schlubach, Hans Heinrich und Ilse Huchting, 173.
Schlubach, Hans Heinrich und Erwin Rathje, 180.
Süs, Oskar, 31.
Teske-Guttmann, Renate, siehe Paul Rabe und Karl Dussel.
Treibs, Wilhelm und Hilmar Bast, 165.
Ulubay, Seyit, siehe Johann Heinrich Helberger und Halidun Civelekoglu.
Vogelbach, Curt, siehe Hans-Joachim Bielig und Theodor Wieland.
Vogelbach, Curt, siehe Theodor Wieland und Hans-Joachim Bielig.
Wagner-Jauregg, Th., 87.
Wieland, Heinrich, siehe Rolf Huisgen und Heinz Eder.
Wieland, Theodor, siehe Hans-Joachim Bielig und Curt Vogelbach.
Wieland, Theodor, Edgar Fischer und Franz Moewus, 47.
Wieland, Theodor, Curt Vogelbach und Hans-Joachim Bielig, 116.
Winterfeld, Karl und Leonard Hugo Bijl, 107.
Winterfeld, Karl und Melanie Rink, 186.

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

TECHNIKA SL

HERAUSGEGEBEN VON

HEINRICH WIELAND

ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

—

BAND 561 · HEFT 1

VERLAG CHEMIE GMBH WEINHEIM/BERGSTR. · BERLIN

Liebigs Annalen der Chemie · Weinheim/Bergstr. 1948 · Band 561 · Heft 1 · Seiten 1—85

Inhalt

Günther Endres, Hertha Bumbacher und Ellen Rohr, Über die Zellatmungsgröße aerober Bakterien 1

Hans Herloff Inhoffen, Ferdinand Bohlmann und Käthe Bartram, Synthesen in der Carotinoid-Reihe, I. Kondensationen von β-Jonon und homologen Ketonen mit Oxalester. (Mit 4 Figuren im Text) 13

Hans Herloff Inhoffen, Horst Pommer und Ferdinand Bohlmann, Synthesen in der Carotinoid-Reihe, II. Über die Synthese eines Kohlenwasserstoffes $C_{30}H_{42}$ 26

Oskar Süs, Synthetische Versuche in der Penicillin-Reihe (II). Versuche zum synthetischen Aufbau des Penicillin-Gerüstes 31

Theodor Wieland, Edgar Fischer und Franz Moewus, Natriumskatylsulfonat, ein Antagonist von Heteroauxin beim Wurzelwachstum. (Mit 1 Figur im Text) 47

Max Bockmühl und Gustav Ehrhart, Über eine neue Klasse von spasmolytisch und analgetisch wirkenden Verbindungen, I 52

Mitarbeiter dieses Heftes: Dr. *Max Bockmühl*, geb. 2. 9. 1882 Barmen; Prof. Dr. *Günther Endres*, geb. 21. 7. 1905 Mannheim; Prof. Dr. *Hans Herloff Inhoffen*, geb. 9. 3. 1906 Döhren (Hann.); Dr. *Oskar Süs*, geb. 9. 4. 1903 Höhenschweiler (Krs. Pirmasens); Prof. Dr. *Theodor Wieland*, geb. 5. 6. 1913 München.

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrags.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphtyl-keton, nicht „Methylnaphtylketon".

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Bei der Wiedergabe der Analysen ist im allgemeinen von der Anführung der Belegzahlen Abstand zu nehmen.

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— DM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1947 by Verlag Chemie, GmbH., (Lizenz US-W-1113 Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. und Berlin — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.

Ausgegeben am 8. November 1948

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN DER CHEMIE

561. Band

Über die Zellatmungsgröße aerober Bakterien

Von *Günther Endres*, *Hertha Bumbacher* und *Ellen Rohr*

(Aus dem Chemischen Staatsinstitut der Universität Hamburg)

Mit 3 Figuren im Text

[Eingelaufen am 26. April 1948]

Als Maß für die Atmungsintensität lebender Zellen dient die Atmungsgröße, die den stündlichen Sauerstoffverbrauch in mm^3 einer Zellmenge angibt, deren Trockengewicht 1 mg beträgt:

$$Q_{O_2} = \frac{mm^3\ O_2\text{-Verbrauch}}{mg\ \text{Zelltrockengewicht} \cdot \text{Stunde}}$$

Ohne Zweifel ist die Atmungsgröße Q_{O_2} für vergleichende Betrachtungen über den Sauerstoffverbrauch lebender Zellen von großem Nutzen. Indes vermag dieser Quotient nicht über den Sauerstoffumsatz einer Einzelzelle Auskunft zu geben. Es wird durch die Bestimmung von Q_{O_2} nur das relative Verhältnis der Atmungsintensitäten, bezogen auf das Trockengewicht des organischen Materials, klargelegt, nicht aber die Atmungsintensität einer Einzelzelle — die „Zellatmungsgröße" — ermittelt. Diese Größe definieren wir durch den Quotienten:

$$Z_{O_2} = \frac{\text{Zahl der veratmeten } O_2\text{-Moleküle}}{\text{Zahl der Zellen} \cdot \text{Sekunde}}$$

Die Zellatmungsgröße Z_{O_2} gibt demnach den Verbrauch von Sauerstoffmolekülen einer Zelle pro Sekunde an.

Die Frage, ob die Einzelzelle als solche eine sinnvolle Bezugsgröße für bakterielle Stoffwechselleistungen darstellt, möchten wir bejahen. Die Schizomycetenzelle ist ein selbständiger Organismus, dessen Lebensäußerungen nicht auf eine willkürlich gewählte physikalische Einheit, etwa auf das Trockengewicht oder das Volumen oder die Oberfläche der Mikroben bezogen werden sollte. Obgleich in jungen Kulturen alle Entwicklungsstadien vielfältig nebeneinander vorkommen, will es uns scheinen, als ob die Durchschnittszelle als Bezugsgröße die biologischen Zusammenhänge, d. h. die natürlichen Koppelungen zwischen Organismus und seinen Stoffwechselvorgängen besonders deutlich erkennen ließe.

In der Literatur haben vor allem Rahn[1]), Viehoever[2]) und Engel[3]) über Stoffwechselumsätze einer Bakterienzelle berichtet. Die Atmungsintensität einer Zelle wurde, soweit wir feststellen konnten, noch nicht gemessen, wohl aber die sogenannte Stundengärleistung einiger Mikroben experimentell bestimmt. Unter dieser Größe wird diejenige Menge eines Stoffwechselproduktes verstanden, die von der durchschnittlichen Einzelzelle in der Stunde produziert wird. Rahn fand für *Bact. acidi lactis* eine mittlere Gärleistung von $18 \cdot 10^{-10}$ mg Milchsäure ($2 \cdot 10^{-14}$ Mol) in der Stunde, was annähernd dem Eigengewicht der Durchschnittszelle des Milchsäurebildners entsprach. Für *Nitrosomonas europaea Winogradsky* beobachtete Engel eine stündliche Nitritbildung von $3 \cdot 10^{-15}$ Mol N_2O_3 pro Zelle.

Der methodische Weg der Autoren war folgender: In einer Bakteriensuspension mit sehr kleiner bekannter Zellzahl wurde unter optimalen Wachstumsbedingungen nach etwa 1—2 Tagen die Vermehrung und gleichzeitig die Konzentration des ausgeschiedenen Stoffwechselproduktes bestimmt. Die für den festgestellten Umsatz verantwortliche Zellzahl wurde aus dem Anfangs- und Endkeimgehalt berechnet unter der Voraussetzung, daß sich sämtliche Bakterien ständig entsprechend der Zunahme einer geometrischen Reihe durch Zweiteilung vermehren.

Wir haben ein anderes Verfahren angewandt, indem wir die Atmung sehr dichter Suspensionen bekannten Keimgehalts während relativ kurzer Versuchszeit (30—60 Minuten) gemessen haben. Die Versuchsbedingungen waren infolge des Fehlens einer N-Quelle in den Suspensionen so beschaffen, daß eine Vermehrung nicht von Einfluß werden konnte. Die Atmungsintensität einer Durchschnittszelle war deshalb durch den O_2-Verbrauch der Suspension dividiert durch die Zellzahl gegeben.

I

In der vorliegenden Arbeit berichten wir über die Zellatmungsgröße von *Bakt. Coli* und *Staph. aureus.*

Es ist bekannt, daß die Atmungsintensität der Bakterien von vielen Faktoren, u. a. von dem Alter der Kulturen, von der Zusammensetzung der Nährlösung, von dem p_H, von der Temperatur abhängig ist. Diese Einflüsse haben wir untersucht, um über die optimalen Bedingungen für die Bestimmung von Q_{O_2} und Z_{O_2} Klarheit zu haben.

Der Zusammenhang zwischen dem Alter der Bakterien-Kulturen und der Atmungsgröße ist der Tab. 1 zu entnehmen. Die Züchtung der Keime sowie die Versuchstechnik sind im experimentellen Teil beschrieben.

---

[1]) Zentralbl. f. Bakt. II, 32, 375 (1912); Journ. of Bact. 19, 383 (1930).

[2]) Zentralbl. f. Bakt. II, 39, 209 (1913/14).

[3]) Archiv f. Mikrobiologie 1, 445 (1930).

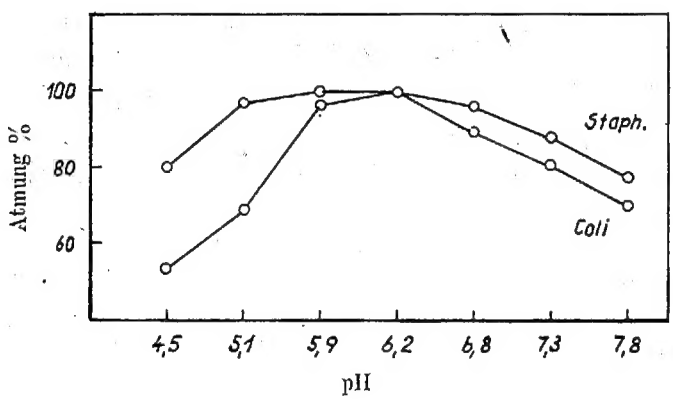
Tab. 1

Alter der Kulturen in Stunden	Bakt. Coli Q_{O_2}	Staph. aureus Q_{O_2}
12	576	192
24	403	133
48	216	68
72	96	51

Die starke Abnahme der Atmungsintensität hat uns veranlaßt, für alle weiteren Versuche nur Bakterien-Kulturen zu verwenden, die höchstens 24 Stunden alt waren.

Der Einfluß des p_H der Suspensionen auf den O_2-Verbrauch läßt sich aus der Fig. 1 ablesen. Auf der Ordinate ist die Atmung in Prozenten des O_2-Verbrauches bei $p_H = 6{,}2$ angegeben.

Fig. 1

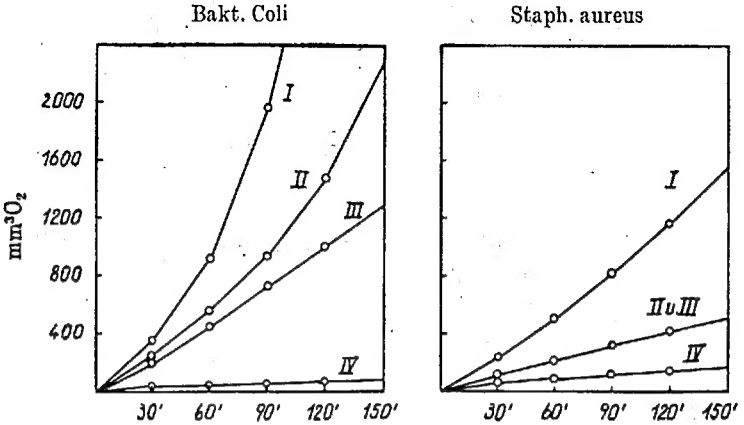


Staph. aureus besitzt ein breiteres, *Bact. Coli* ein schmäleres Atmungsoptimum im schwach sauren Gebiet. In der Folge haben wir alle Versuche bei $p_H = 6{,}2$ (Phosphat $^m/_{75}$) durchgeführt.

Als Substrat wurde in den Versuchsansätzen stets *Glucose* verwandt, das auch für die Zuchtlösungen als C-Quelle diente. Der O_2-Verbrauch von Coli und Staph. ist von dem Glucosegehalt der Suspensionen innerhalb des geprüften Bereiches $^m/_{500}$ bis $^m/_5$ unabhängig.

Die Atmung der Coli-Bakterien in Glucose-Lösung ($^m/_{15}$), die frei von assimilierbaren N-Verbindungen ist, bleibt innerhalb der üblichen Versuchszeit von 1—2 Stunden ziemlich gleichmäßig, während die der Staphylokokken allmählich abnimmt. (Kurve III, Fig. 2.) Die Diagramme der Fig. 2 geben den O_2-Verbrauch der beiden Zellarten bei 37°, bezogen auf 1 mg Bakterientrockensubstanz, wieder.

Fig. 2
Versuch Nr. 63 und 57



I: Glucose + Bouillon III: Glucose
II: Glucose + Ammoniumsulfat IV: Leeratmung

In Gegenwart von Bouillon steigt der O_2-Verbrauch infolge des starken Bakterien-Wachstums rasch an (Kurve I). Wird den Zellen Ammoniumsulfat als N-Quelle geboten, so findet nur eine Zunahme des O_2-Verbrauchs, d. h. ein Wachstum, bei Bakt. Coli statt, während die Atmung von Staph. aureus unbeeinflußt bleibt (Kurve II). Staph. vermag den Ammonsulfat-Stickstoff nicht zu assimilieren.

Der Temperatureinfluß auf die Atmungsgröße von Bakt. Coli und Staph. aureus ist der Tab. 2 zu entnehmen. Die Intensität der Atmung ist bei 37° etwa 2,6—2,8mal größer als bei 24°.

Tab. 2
Die Atmungsgröße (Mittelwerte) von 20—24 Stunden alten Kulturen.
p_H 6,2. Glucosegehalt m/15. Phosphatgehalt m/35

		24°	37°
Bakt. Coli	Zahl der Ansätze	24	20
	Q_{O_2}	143	406
Staph. aureus	Zahl der Ansätze	10	16
	Q_{O_2}	79	204

Die gefundenen Atmungsgrößen sind Mittelwerte von 20—24 Stunden alten Kulturen, gemessen in weitgehend N-freien Suspensionen während der 2. oder 3. halben Stunde der Versuche. Wie die beiden Kurven III in Figur 2 oder die Protokolle der Versuche 63 und 57 im experimentellen Teil belegen, findet während der

Versuchsdauer keine ins Gewicht fallende Zellvermehrung statt, ansonsten der O_2-Verbrauch, ein empfindlicher Indikator für diesen Vorgang, angestiegen wäre.

Bei 37° verarbeitet Bakt. Coli, und zwar eine Keimmenge, deren Trockengewicht 1 mg beträgt, im Mittel 406 mm³ Sauerstoff in der Stunde. Der entsprechende Wert für Staph. aureus beträgt 204 mm³ O_2. Diese in der Tabelle angegebenen Q_{O_2}-Werte, deren Abweichungen in den meisten Ansätzen weniger als ± 15 % betragen, sind unsere Basis für die Bestimmung der Zellatmungsgrößen.

II

Unter *Trockenkeimgehalt* verstehen wir das in 1 ccm Bakteriensuspension vorhandene Gewicht in mg an getrockneter (100°) Zellmasse.

Diese Größe läßt sich auf optischem Wege bestimmen, wenn der Zusammenhang zwischen dem Trockenkeimgehalt und der Trübung der Bakteriensuspensionen bekannt ist[4]). Kennt man diese Abhängigkeit, so ergibt eine einfache Extinktionsmessung den jeweiligen Trockenkeimgehalt.

Die Beziehung zwischen Trockenkeimgehalt und Lichtabsorption wird durch das Experiment erhalten, indem man einerseits den Gehalt an Bakterientrockensubstanz einer dichten Zellsuspension auf gravimetrischem Wege ermittelt und andererseits die Extinktion einer Verdünnungsreihe dieser Suspension mißt. Ein solcher Versuch ist in Tab. 3 wiedergegeben.

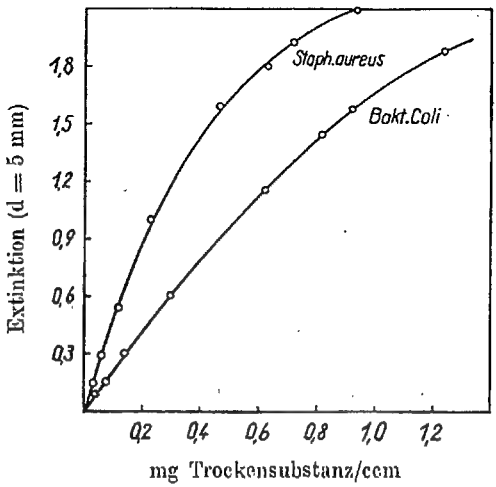
Tab. 3

	Bakt. Coli		Staph. aureus	
10 ccm Bakteriensuspension verdünnt auf ccm	Trockenkeimgehalt mg/ccm	Extinktion	Trockenkeimgehalt mg/ccm	Extinktion
10	1,233	1,85	0,94	2,13
13,3	0,925	1,58	0,71	1,92
15	0,823	1,45	0,63	1,80
20	0,617	1,15	0,47	1,58
40	0,308	0,59	0,23	0,99
80	0,154	0,31	0,12	0,54
160	0,077	0,15	0,06	0,30
320	0,038	0,08	0,03	0,16

Der Trockenkeimgehalt der Verdünnungen (Tab. 3) wurde aus dem gravimetrisch bestimmten Bakterientrockengewicht der unverdünnten Suspension berechnet. Die Extinktion der Verdünnungen wurde mit dem Stufenphotometer unter Verwendung des Filters S 53 und einer Küvette von 5 mm Schichtdicke gemessen. Eine größere Anzahl derartiger Versuchsergebnisse ist in den beiden sogenannten Eichkurven für Coli und Staph. zusammengefaßt, die in der Fig. 3 dargestellt sind.

[4]) Günther Endres und Liese Kaufmann, A. 535, 3 (1938).

Fig. 3



Wie aus den Diagrammen der Fig. 3 abzulesen ist, steigt die Extinktion der Suspensionen für Coli bis etwa E = 0,8, für Staph. bis etwa E = 0,5 proportional des Trockenkeimgehaltes an. Bei dichten Suspensionen nimmt die Extinktion langsamer als der Trockenkeimgehalt zu. Eine Staph.-Suspension besitzt bei gleichem Trockenkeimgehalt eine wesentlich größere Lichtabsorption als eine Coli-Suspension, was zum Teil durch das gelbe Pigment der Kokken bedingt sein dürfte.

III

Unter der *Zellkonzentration* verstehen wir diejenige Anzahl Keime, die in 1 ccm Bakteriensuspension vorhanden ist. Für die Bestimmung der Zellatmungsgröße ist es notwendig, den Zusammenhang zwischen Zellkonzentration und Trockenkeimgehalt zu ermitteln. Es ist mit anderen Worten zu bestimmen, wieviel Keime in 1 mg Trockensubstanz enthalten sind.

Die Zellkonzentration haben wir nach bekanntem Verfahren festgestellt, indem wir zuerst die Suspensionen, deren Trockenkeimgehalt vorher gemessen war, auf das 10^6—10^8fache mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten. Alsdann wurden die in den extremen Verdünnungen noch vorhandenen Keime auf Agar-Platten ausgesät und schließlich die gewachsenen Kolonien gezählt.

In der Tab. 4 sind die Ergebnisse je eines Versuches mit Bakt. Coli und Staph. aureus wiedergegeben. In der ersten Spalte sind die jeweiligen Verdünnungen, in der zweiten und vierten Spalte die in 0,1 ccm der Verdünnungen vorhandenen Keime, d. h. die Anzahl der Kolonien, die nach dreitägigem Bebrüten auf den Agarplatten gewachsen waren, verzeichnet. Aus diesen Werten ist die Zellkonzentration der unverdünnten Suspension errechnet. (Spalte 3 und 5.)

Tab. 4

	Bakt. Coli		Staph. aureus	
Unverdünnte Suspension	Extinktion . . . . 1,06 Trockenkeimgehalt 0,56		Extinktion . . . . 1,68 Trockenkeimgehalt 0,52	
1 ccm Suspension verdünnt auf ccm	Keime in 0,1 ccm	Zellkonz. der unverd. Susp.	Keime in 0,1 ccm	Zellkonz. der unverd. Susp.
$1{,}0 \cdot 10^6$	247	$2{,}5 \cdot 10^9$	113	$1{,}1 \cdot 10^9$
$2{,}0 \cdot 10^6$	—	—	58	$1{,}2 \cdot 10^9$
$3{,}3 \cdot 10^6$	104	$3{,}4 \cdot 10^9$	36	$1{,}2 \cdot 10^9$
$5{,}0 \cdot 10^6$	—	—	20	$1{,}0 \cdot 10^9$
$10{,}0 \cdot 10^6$	31	$3{,}1 \cdot 10^9$	13	$1{,}3 \cdot 10^9$
$33{,}0 \cdot 10^6$	10	$3{,}3 \cdot 10^9$	—	—

Sind die Zellkonzentration und der Trockenkeimgehalt einer Suspension experimentell bestimmt, so läßt sich durch Division der beiden Größen die Anzahl der Keime, die in 1 mg Trockensubstanz enthalten sind, ermitteln. Wir nennen diesen Quotienten *Zellindex*, dessen reziproker Wert das Trockengewicht einer Zelle in mg angibt.

Zusammengefaßt bedeutet:

Trockenkeimgehalt = mg Bakterientrockensubstanz/ccm
Zellkonzentration = Anzahl der Zellen/ccm
Zellindex = Anzahl der Zellen/mg Bakterientrockensubstanz
1/Zellindex = Trockengewicht einer Zelle in mg.

Auf Grund mehrerer Bestimmungen fanden wir, daß eine Menge von 1 mg bei 100° getrockneter Coli-Zellen sich im Mittel aus 5,2 Milliarden Keimen zusammensetzt (Tab. 5). Dieser Wert für den Zellindex wird der Berechnung der Zellatmungsgröße zugrunde gelegt werden. Er steht in Übereinstimmung mit den Befunden von Mac Neal, Latzer und Kerr[5]) aus dem Jahre 1909, die feststellten, daß 1 mg Trockensubstanz von Bakt.Coli aus 4,6—5,7 · 10^9 Zellen besteht.

Tab. 5

	Zellkonzentration	Trockenkeimgehalt	Zellindex	
Bakt. Coli . . . . . (4 Versuchsreihen)	$2{,}8 \cdot 10^9$ 3,1 · 10 $2{,}9 \cdot 10^9$ $3{,}0 \cdot 10^9$	0,58 0,56 0,57 0,56	$4{,}8 \cdot 10^9$ $5{,}5 \cdot 10^9$ $5{,}1 \cdot 10^9$ $5{,}3 \cdot 10^9$	$5{,}2 \cdot 10^9$
Staph. aureus	$(1{,}2 \cdot 10^9)$	0,52	$(2{,}3 \cdot 10^9)$	

[5]) Journ. of infect. Diseases. **6**, 146 (1909).

Die gefundenen Werte für den Zellindex von Staph. aureus schwanken und sind nicht eindeutig. In der Tabelle 5 ist deshalb nur ein Versuchsergebnis angeführt. Aus den meisten Versuchen berechnet sich der Zellindex zu $2—3 \cdot 10^9$. Im folgenden Kapitel wird gezeigt, warum dieser Zellindex zu niedrig gefunden worden ist und mit dem Faktor 3—4 multipliziert werden muß.

IV

Aus mikroskopischer Messung ist die Größe von Bakt. Coli und Staph. aureus bekannt.

Bakt. Coli wird als ein Stäbchen von $2—4\,\mu$ Länge und $0{,}4—0{,}8\,\mu$ Breite beschrieben[6]). Wenn wir die Coli-Zelle als einen Zylinder auffassen und als Mittelwerte eine Länge von $3\,\mu$ und eine Breite von $0{,}6\,\mu$ annehmen, so berechnet sich das Volumen eines Keimes zu: $\frac{\pi}{4} \cdot 0{,}6^2 \cdot 3\,\mu^3 = 0{,}85 \cdot 10^{-9}$ mm³. Unter Berücksichtigung des spezifischen Gewichtes lebender Zellen, das für Paramäcien zu 1,09 bestimmt wurde[7]), beträgt das durchschnittliche Lebendgewicht einer Bakt. Coli-Zelle $0{,}93 \cdot 10^{-9}$ mg.

Wir fanden (Tab. 5), daß 1 mg Bakterientrockensubstanz aus 5,2 Milliarden Coli-Zellen besteht. Aus dieser direkten Bestimmung des Zellindex ergibt sich für die Trockensubstanz eines einzigen Keimes ein Gewicht von $0{,}19 \cdot 10^{-9}$ mg, das sind etwa 20 % des Lebendgewichtes, welches aus dem Zellvolumen abgeleitet wurde. Augenscheinlich steht dieser Wert in vernünftiger Relation zu dem aus morphologischen Angaben ermittelten Lebendgewicht, eine Tatsache, die uns in Anbetracht der Verschiedenheit der benutzten experimentellen Wege bemerkenswert erscheint. C. H. Werkmann[8]) fand den Prozentgehalt an Trockensubstanz bei den meisten untersuchten Bakterien zu etwa 15 %.

Die Kokken von Staph. aureus haben einen Durchmesser von $0{,}7—1{,}2\,\mu$. Für $d = 1\,\mu$ berechnet sich das Volumen eines Staphylokokkus zu $0{,}52 \cdot 10^{-9}$ mm³, und dessen Lebendgewicht (spez. Gewicht = 1,1) zu $0{,}57 \cdot 10^{-9}$ mg.

Aus der Tab. 5 ist zu entnehmen, daß sich nach unseren Keimzahlbestimmungen 1 mg Trockensubstanz aus $2{,}3 \cdot 10^9$ Staphylokokken-Zellen zusammensetzen sollte. Auf Grund dieses Zellindexes müßte ein trockener Keim $0{,}43 \cdot 10^{-9}$ mg wiegen. Dieses Trockengewicht, das beinahe an das aus dem Volumen der Kokken errechnete Lebendgewicht herankommt, ist ohne Zweifel beträchtlich zu hoch. Diese Diskrepanz läßt sich erklären.

Die Staphylokokken haben die charakteristische Eigenschaft, sich in flüssigen und festen Nährböden gern aneinander zu lagern. Man beobachtet im hängenden Tropfen oder im gefärbten Präparat neben einzelnen Individuen zumeist größere Haufen, die an die Form einer Weintraube denken lassen. Es scheint nun nicht möglich zu sein — wenigstens ist es uns trotz vieler Variationen in der Versuchstechnik nicht gelungen — sämtliche Keime einer Staph.-Suspension *einzeln* zur Aussaat zu

[6]) Kolle-Hetsch, Experimentelle Bakteriologie, 8. Aufl. 1938, S. 167. H. D. Bergey, Manual of determinative Bacteriology, London 1926.
[7]) Hartmann, Allgemeine Biologie, 2. Aufl. 1933, Seite 36.
[8]) Journ. of Bact. 14, 335 (1927).

bringen. Vielleicht sind auch nicht alle Keime angegangen. Der größere Teil der auf den Agarplatten gewachsenen Kolonien dürfte sich wahrscheinlich nicht aus einem, sondern aus einer Anzahl Keime gebildet haben; die Folge davon wäre, daß die Zellkonzentration der Staph.-Suspension stets zu niedrig und damit auch das Trockengewicht eines Keimes zu hoch gefunden würde.

Der offensichtlich zutreffende Wert für das Trockengewicht einer Staph. aureus-Zelle und für deren Zellindex läßt sich auf folgendem Weg gewinnen. Für Bakt. Coli beträgt das Trockengewicht etwa 20 % des Lebendgewichtes. Mit gutem Grund können wir unterstellen, daß dieses Verhältnis in etwa auch die richtige Proportion für die Staphylokokken wiedergibt. Da das Lebendgewicht einer Kokke auf Grund ihrer Durchschnittsgröße $0{,}57 \cdot 10^{-9}$ mg beträgt, ergibt sich für ihre Trockensubstanz ein Gewicht von $0{,}12 \cdot 10^{-9}$ mg (Tab. 6).

Tab. 6

	Bakt. Coli	Staph. aureus
Zellvolumen in mm³	$0{,}85 \cdot 10^{-9}$	$0{,}52 \cdot 10^{-9}$
Trockengewicht einer Zelle (mg)	$0{,}19 \cdot 10^{-9}$	$0{,}12 \cdot 10^{-9}$
Lebendgewicht einer Zelle (mg)	$0{,}93 \cdot 10^{-9}$	$0{,}57 \cdot 10^{-9}$
Zellindex	$5{,}2 \cdot 10^{9}$	$8{,}4 \cdot 10^{9}$

Wiegt nun eine Staph.-Zelle in trockenem Zustand $0{,}12 \cdot 10^{-9}$ mg, so besteht 1 mg Trockensubstanz aus $8{,}4 \cdot 10^{9}$ Zellen. Dieser Wert für den Zellindex von Staphylokokken, den wir in Tab. 6 vermerkt haben, wird für die Berechnung der Zellatmungsgröße dienen.

V

Zwischen der Atmungsgröße und der Zellatmungsgröße besteht folgende Beziehung:

$$Z_{O_2} = \frac{Q_{O_2}}{\text{Zellindex}} \cdot k = \frac{\text{mm}^3\ O_2 \cdot \text{Trockengewicht einer Zelle}}{\text{mg Bakterientrockengewicht} \cdot \text{Stunde}} \cdot k$$

k ist ein Umrechnungsfaktor und hat den Wert: $\frac{6 \cdot 10^{17}}{3600 \cdot 22{,}4}$

Der Quotient: Q_{O_2}/Zellindex gibt den O_2-Verbrauch in mm³ pro Stunde und Zelle an. Auf Grund unserer Meßergebnisse verbraucht eine Coli-Zelle bei 37° in der Stunde $406 : 5{,}2 \cdot 10^{9} = 7{,}8 \cdot 10^{-8}$ mm³ Sauerstoff. Für Staph.aureus ergibt sich eine stündliche Atmung von $2{,}4 \cdot 10^{-8}$ mm³ Sauerstoff. Diese Atmungsintensität entspricht einem Verbrauch von 3,5 bzw. $1{,}1 \cdot 10^{-15}$ Mole O_2 pro Stunde und Zelle (Tab. 7, Spalte 3 und 4).

Tab. 7

	Bakt. Coli		Staph. aureus	
	24°	37°	24°	37°
1 Atmungsgröße Q_{O_2} .	143	406	79	204
2 Zellindex	$5{,}2 \cdot 10^9$	$5{,}2 \cdot 10^9$	$8{,}4 \cdot 10^9$	$8{,}4 \cdot 10^9$
3 mm^3 O_2-Verbrauch pro Zelle u. Stunde .	$2.7 \cdot 10^{-8}$	$7{,}8 \cdot 10^{-8}$	$0{,}94 \cdot 10^{-8}$	$2{,}4 \cdot 10^{-8}$
4 Mole O_2-Verbrauch pro Zelle u. Stunde .	$1{,}2 \cdot 10^{-15}$	$3{,}5 \cdot 10^{-15}$	$0{,}42 \cdot 10^{-15}$	$1{,}1 \cdot 10^{-15}$
5 Zellatmungsgröße Z_{O_2}	$2{,}0 \cdot 10^5$	$5{,}9 \cdot 10^5$	$0{,}7 \cdot 10^5$	$1{,}8 \cdot 10^5$

In der Spalte 5 der Tab. 7 ist die gesuchte Zellatmungsgröße von Coli und Staph. eingetragen. Diese Z_{O_2}-Werte sagen aus: *Bei 37° werden in der Sekunde durch eine Bakt.Coli-Zelle 590000 — durch eine Staph.aureus-Zelle 180000 — Sauerstoff-Moleküle zur Oxydation der Ferroform des Atmungsfermentes benutzt.*

Die Messungen stellen, durch die Methodik bedingt, Mittelwerte der Atmungsintensität sämtlicher Zellen eines Versuchsansatzes, bezogen auf eine Zelle, dar. Diese Durchschnittsleistung gilt für 20—24 Stunden alte Zellkulturen. Die Fehlergrenze der Z_{O_2}-Bestimmungen schätzen wir auf etwa 25 %.

Es ist instruktiv, die Zellatmungsgröße in Beziehung zu dem Zellvolumen und der Zellmasse zu setzen. Aus den Daten der Tab. 6 und 7 läßt sich leicht ermitteln, daß eine Bakt.Coli-Zelle bei 37° in 39 Sekunden — Staph. in 78″ — ihr eigenes Volumen an Sauerstoff veratmet.

Eine andere Rechnung ergibt, daß eine Coli-Zelle innerhalb 1,7 Stunden eine O_2-Menge bei 37° bewältigt, die ihrer Trockenzellmasse an Gewicht entspricht.

Des weiteren entwickelt eine Coli-Zelle, da der respiratorische Quotient angenähert = 1 zu setzen ist, in der Stunde $1{,}5 \cdot 10^{-10}$ mg Kohlensäure. Folglich werden $1{,}9 \cdot 10^{-10}$ mg $\cdot CO_2$ — eine Menge, die mit dem Trockengewicht eines Keimes übereinstimmt, — in etwa $1^1/_4$ Stunden ausgeschieden.

Um die fermentative Leistung zu veranschaulichen, sei erwähnt, daß 1 ccm lebender Coli-Zellen ($1{,}1 \cdot 10^{12}$ Zellen) in der Stunde 4,1 mMol, das heißt 91 ccm O_2 umzusetzen vermag.

Man kann abschätzen, daß sich eine Coli-Zelle, deren Trockengewicht $2 \cdot 10^{-10}$ mg beträgt, aus etwa 10^7—10^8 Molekülen (ohne H_2O) zusammensetzt. Ein Umsatz in dieser Größenordnung an O_2- bzw. CO_2-Molekülen wird durch eine Coli-Zelle in etwa 1 Minute bewirkt.

Als Substrat diente in unseren Versuchen Glucose. Aus dem Wert der Zellatmungsgröße läßt sich ableiten, daß eine Coli-Zelle bei 37° in der Sekunde 100000 Glucose-Moleküle verbrennt und in dieser Zeit rund 10^{-16} Kcal. freisetzt.

Die Oberfläche eines Bakt.Coli beträgt $6{,}2 \cdot 10^{-6}$ mm². Es diffundieren demzufolge durch 1 qmm Zelloberfläche ständig $1.6 \cdot 10^{10}$ Glucose-Moleküle oder $2{,}5 \cdot 10^{-14}$ Mol Glucose pro Sekunde.

Für die meisten aeroben Bakterien dürfte die Zellatmungsgröße Werte zwischen 10^5 und 10^6 besitzen. Diese Atmungsintensität spiegelt eine bedeutende katalytische Leistung wieder, die dem Organismus nur in untergeordnetem Ausmaß von Nutzen sein kann. Dies lehren eindringlich die gefundenen Relationen zwischen der Einzelzelle und ihrem Stoffwechsel. Die freigesetzte Energie wird zum größten Teil für die Zelle zwecklos vertan und muß in Form von Wärme nach außen abgegeben werden. Allein die Betrachtung des Kohlenstoffkreislaufes in der Natur scheint diesem Vorgang eine rationelle Deutung geben zu können. In diesen größeren Zusammenhang gestellt, wird die Zellatmungsgröße zu einem treffenden Ausdruck für die biologische Aufgabe der aeroben Mikroben, den oxydativen Abbau organischen Materials durchzuführen.

Experimenteller Teil

1. Gewinnung der Bakterien-Suspensionen. Die Stammkulturen von Bakt. Coli und Staph. aureus wurden in Traubenzuckerbouillon bei 37° gezüchtet und täglich überimpft. Die Kulturlösung hatte folgende Zusammensetzung: 20 g Glucose, 25 g Standard-Nährbouillon „Merck", 1000 g aqua dest.

Die für die Versuche benötigten Bakterien wurden stets auf Schräg-Agar-Kulturen gezogen. Zusammensetzung: 20 g Agar, 10 g Fleischextrakt, 10 g Pepton, 5 g NaCl, 0,5 g Na_2CO_3, 1000 g dest. H_2O. Die sterilen Schräg-Agar-Röhrchen wurden mit einer 24 Stunden alten Stammkulturlösung übergossen und danach bei 37° bebrütet. Der gewachsene Bakterienrasen — etwa 20—24 Stunden alt — wurde mittels Platinöse vom Agar getrennt und in Leitungswasser suspendiert. Je nach der Stärke des Rasens und des gewünschten Trockenkeimgehalts wurden meist 5 bis 10 ccm Wasser pro Röhrchen benötigt; nach kräftigem Schütteln wurde diese Aufschwemmung durch ein Faltenfilter filtriert.

2. Bestimmung des Trockenkeimgehaltes. Als Ausgangsmaterial diente zumeist 40 ccm Bakteriensuspension, die aus dem Rasen von ca. 6 Schräg-Agar-Röhrchen gewonnen war.

Für die gravimetrische Trockengewichtsbestimmung wurden 30 ccm Suspension bei 5 000 Touren zentrifugiert. Der Rückstand wurde in ½n-Schwefelsäure suspendiert und wieder zentrifugiert. Anschließend wurden die Bakterien noch zweimal mit Wasser gewaschen und wieder abgeschleudert. Der Niederschlag wurde alsdann quantitativ mit Wasser in eine kleine Glasschale überführt und zuerst bei 50° und alsdann bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Mit einem anderen Teil der Suspension wurde gleichzeitig eine Verdünnungsreihe hergestellt und die Extinktion der Lösung mit dem Pulfrichschen Stufenphotometer gemessen. Filter S 53 grün. Schichtdicke 5 mm.

Der jeweilige Gehalt der Verdünnungen an Bakterien-Trockensubstanz wurde aus der gravimetrischen Bestimmung des Trockenkeimgehaltes der unverdünnten Suspension berechnet und den Extinktionsmessungen gegenübergestellt. (Siehe Tab. 3). Die Meßkurven, die den Zusammenhang zwischen Trockenkeimgehalt und Extinktion wiedergeben, sind das Ergebnis von je 6 Versuchen mit Bakt. Coli und Staph. aureus.

3. Zellzahlbestimmung. Für die Ermittlung der Zellzahl einer Suspension, deren Trockenkeimgehalt photometrisch bestimmt war, wurde eine Verdünnungsreihe mit Leitungswasser bzw. physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Bis zu

einer Verdünnung von $1:10^6$ wurden zuerst dreimal je 1 ccm Suspension im Meßkolben auf 100 ccm und dann in kleinen Stufen weiter verdünnt. Zur guten Durchmischung wurde jede Verdünnung besonders kräftig geschüttelt und vor der Entnahme mit der Pipette mehrmals diese mit der Suspension ausgespült.

Die unverdünnte Bakteriensuspension enthielt durchschnittlich $2-3 \cdot 10^9$ Keime. Die Aussaat erfolgte mit 0,1 ccm der auf das 10^6-10^8fache verdünnten Suspension, und zwar dadurch, daß entweder 0,1 ccm der Bakterienverdünnung mit dem verflüssigten Agar zu einer Platte vergossen wurde oder dadurch, daß 0,1 ccm der Verdünnung gleichmäßig auf der Oberfläche des erstarrten Agars verteilt wurde. Wir gaben der letzteren Methode den Vorzug, da die erhaltenen Zellzahlen immer gleichmäßiger waren und stets etwas höher lagen. Es wurden 4 Platten ausgesät und die Zahl der gewachsenen Kolonien nach dreitägiger Bebrütung bestimmt. Sollen sich die Werte innerhalb einer Fehlergrenze von 20 % bewegen, so ist ein rasches und gleichmäßiges Arbeiten erforderlich.

4. Bestimmung der Atmung. Die Messung des O_2-Verbrauches erfolgte nach der Methode von Barcroft-Warburg. Das Volumen der Gefäße betrug etwa 40 ccm, das der Versuchslösung (Bakteriensuspension + Zusätze) stets 10 ccm. Der Einsatz enthielt 0,5 ccm Kalilauge (50proz.). Bei sämtlichen Versuchen war der Gasraum der Gefäße mit Luft gefüllt. Die Schüttelgeschwindigkeit belief sich auf etwa 250 Richtungsänderungen pro Minute. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, die Bakteriensuspension in den Barcroft-Gefäßen etwa 30 Minuten, ohne den Sauerstoffverbrauch abzulesen, vorzuschütteln. Mißt man sofort nach dem Temperaturausgleich die Atmung der Suspensionen, so findet man die Q_{O_2}-Werte in der ersten halben Stunde meist beträchtlich erhöht. Sie fallen erst in der 2. bis 4. Viertelstunde auf den Normalwert für Glucose ab. Die gemessenen Atmungsgrößen stellen einen Normalwert, nicht aber einen Maximalwert dar. Die anfänglich hohen Q_{O_2}-Werte dürften auf die Verbrennung zelleigener Substrate bzw. Intermediär-Produkte zurückzuführen sein.

Weitere Versuchseinzelheiten sind aus den Protokollen der Versuche 63 und 57 zu ersehen, deren Ergebnisse in Fig. 2 graphisch dargestellt worden sind.

Versuch 63

Bakt.Coli. 24 Stunden alte Kultur. Rasen eines Schrägagar-Röhrchens in 16 ccm H_2O dest. suspendiert. Extinktion 1,02. Keimdichte 0,54. Temperatur 37°. Gasraum: Luft. Einsatz 0,5 ccm KOH (50 %). Vor Beginn der Ablesung wurden die Ansätze 35 Minuten vorgeschüttelt.

Ansatz Nr.	1	2	3	4
Bakterien-Suspension ccm	1	0,5	1	1
mg Trockengewicht	0,54	0,27	0,54	0,54
Glucoselösung (12proz.) ccm	1	1	1	0
m/7,5 Phosphat ($p_H = 6,2$) ccm	1	1	1	1
Bouillon (15proz.) ccm	—	1	—	1
m/10 $(NH_4)_2SO_4$ ccm	—	—	1	—
Leitungswasser ccm	7	6,5	6	8
Sauerstoffverbrauch in mm^3 pro 1 mg Bakterientrockensubstanz				
0′— 30′	205	334	246	32
30′— 60′	252	583	302	18
60′— 90′	262	1052	400	18
90′—120′	285	1620	536	12
120′—150′	268	—	780	16

Versuch 57

Staph. aureus. 20 Stunden alte Kultur. Bakterien-Suspension aus Rasen von 8 Schräg-Agar-Röhrchen in 20 ccm H_2O dest. Extinktion 1,92. Keimdichte 0,72. Temperatur 37°. Gasraum: Luft. Vor Beginn des Versuches wurden die Ansätze 30 Minuten vorgeschüttelt.

Ansatz-Nr.	1	2	3	4
Bakterien-Suspension ccm	2	2	2	2
mg Trockengewicht	1,44	1,44	1,44	1,44
Glucose-Lösung (12proz.) ccm	1	1	1	0
m/7,5 Phosphat ($p_H = 6{,}2$) ccm	1	1	1	1
Bouillon (15proz.) ccm	—	1	—	—
m/10 $(NH_4)_2SO_4$ ccm	—	—	1	—
Leitungswasser ccm	6	5	5	7

Sauerstoffverbrauch in mm^3 pro 1 mg Bakterientrockensubstanz

0′— 30′	118	245	113	66
30′— 60′	108	262	102	47
60′— 90′	101	314	93	33
90′—120′	90	346	90	26
120′—150′	80	370	86	23

Synthesen in der Carotinoid-Reihe, I

Kondensationen von β-Jonon und homologen Ketonen mit Oxalester[1])

Von *Hans Herloff Inhoffen*, *Ferdinand Bohlmann* und *Käthe Bartram*

(Aus dem Organisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig)

Mit 4 Figuren im Text

[Eingelaufen am 8. Mai 1948]

Die Kondensation von Ketonen mit Oxalester ist in der Literatur wiederholt beschrieben[2]). Im allgemeinen wird Na-Äthylat als Kondensationsmittel angewandt. Die Reaktion führt je nach den angewandten Versuchsbedingungen zu verschiedenen Endprodukten:

1. $R{-}CO{-}CH_3 + H_5C_2OOC{-}COOC_2H_5 \rightarrow R{-}CO{-}CH_2{-}CO{-}COOC_2H_5$
2. $2R{-}CO{-}CH_3 + H_5C_2OOC{-}COOC_2H_5 \rightarrow R{-}CO{-}CH_2{-}CO{-}CO{-}CH_2{-}CO{-}R$

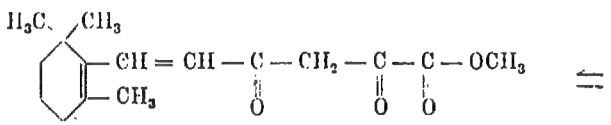
[1]) Verbindung I und VIII wurden von dem einen von uns (H. H. I.) in gemeinsamer Arbeit mit Arens und van Dorp in den Jahren 1943—1944 bei der Organon dargestellt. Ebenso das C_{16}-Keton, die C_{17}-Säure und das C_{18}-Keton, sowie die C_{20}-Säure, die sog. Vitamin A-Säure, vgl. auch Nature **160**, 189 (1947), 1. Absatz.

[2]) B. 20, 2181, 21, 1134, 28, 1206, 30, 955, 39, 1331, 55, 2069, 59, 500, 66, 955. — A. 291, 136.

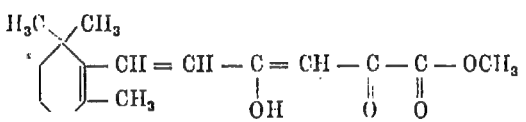
Im ersten Falle arbeitet man im allgemeinen in alkoholischer Lösung mit Natriumalkoholat, während im zweiten Falle die Reaktion in Äther mit alkoholfreiem Äthylat durchgeführt wird.

Mono-Kondensation mit Oxalester

Die Kondensation von Benzalaceton mit Oxalester[3]) ist von *Schiff* durchgeführt worden. Überträgt man die Reaktionsbedingungen auf das β-Jonon, das die gleiche ungesättigte Seitenkette besitzt, so gelingt die Reaktion nicht. Führt man aber die Reaktion bei tiefen Temperaturen durch (—70°), so erhält man in guter Ausbeute das Mono-Kondensationsprodukt Ia bzw. Ib:



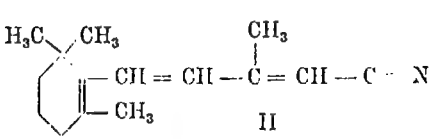
Ia



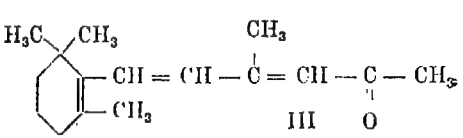
Ib

In methanolischer Lösung erfolgt Umesterung und es entsteht der Methylester. Das UV-Absorptionsspektrum des Esters zeigt ein breites Maximum bei 360 mμ (Fig. 1). Eine so langwellige Absorption ist nur denkbar, wenn man annimmt, daß der Ester als Enol vorliegt (Ib).

Als nächstes Keton in der Reihe wurde das C_{16}-Keton (III) mit Oxalester kondensiert. Dieses Keton ist bereits von *Karrer*[4]), sowie in neuerer Zeit von *Young*, *Andrews* und *Cristol*[5]) beschrieben worden. Die Autoren geben aber an, daß sie keine kristallisierten Derivate erhalten konnten. Zur Darstellung des C_{16}-Ketons kondensierten wir β-Jonon mit Cyanessigsäure zum β-Jonyliden-acetonitril (II)[6]). Dieses wurde in Anisol mit CH_3MgJ umgesetzt.



II

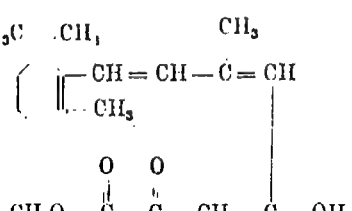


III

[3]) B. **31**, 1308 (1898).
[4]) Helv. **17**, 3 (1934).
[5]) Am. Soc. **66**, 520 (1944).
[6]) Wittig u. Hartmann, B **72**, 1387 (1939).

Die Hochvakuumdestillation führt zu einem gelben Öl, das durch Behandlung mit Girard's Reagenz von nichtketonischen Anteilen befreit wurde. Eine weitere Reinigung wurde durch Chromatographie erzielt. Das so erhaltene gelbe Öl gibt in guter Ausbeute ein Semicarbazon vom Schmp. 165—66°; sein Spektrum ist in Fig. 2 dargestellt.

Wie zu erwarten war, ist das UV-Maximum im Vergleich zum β-Jononsemicarbazon um etwa 25 mμ ins Langwellige verschoben (Fig. 2). Damit kann die Konstitution des C_{16}-Ketons als gesichert gelten. Dieses Keton wurde nun nach derselben Methode wie beim β-Jonon mit Oxalester kondensiert. Man erhält so den Methylester (IV) vom Schmp. 135° in gelbbraunen Nadeln. Das UV-Absorptionsmaximum ist gegenüber dem entsprechenden Jonon-Kondensationsprodukt um 20 mμ ins Langwellige verschoben (Fig. 1).



IV

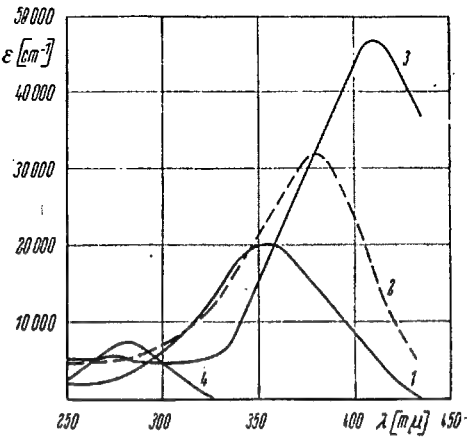


Fig. 1

1 = Mono-Jonon-oxalester
2 = Mono-C_{16}-Keton-oxalester
3 = Mono-C_{18}-Keton-oxalester
4 = Mono-Aceton-oxalester

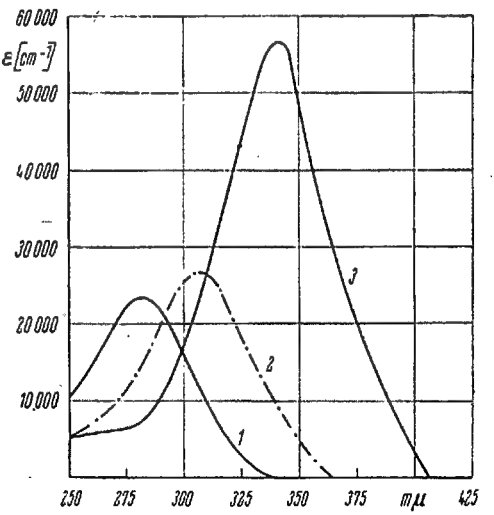
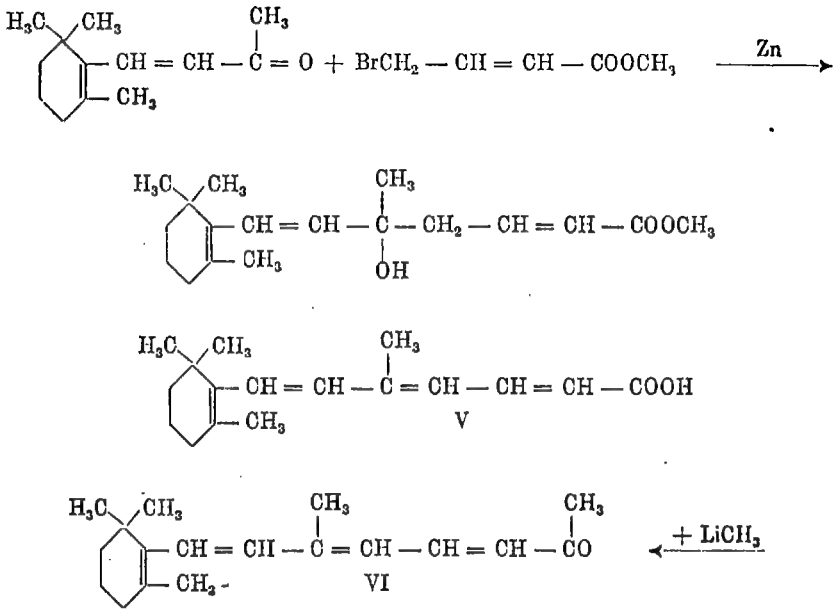


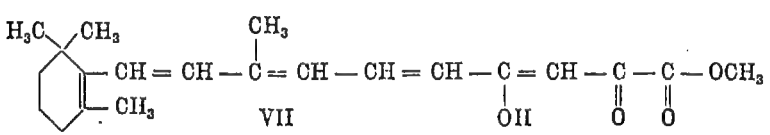
Fig. 2

1 = β-Jonon-semicarbazon
2 = C_{16}-Keton-semicarbazon
3 = C_{18}-Keton-semicarbazon

Schließlich konnte auch das C_{18}-Keton[7]) mit Oxalester umgesetzt werden. Das C_{18}-Keton (VI) wurde mit Lithium-methyl aus der β-Jonyliden-crotonsäure (V) — der sog. C_{17}-Säure — hergestellt und über das Semicarbazon gereinigt.



Man führt die Kondensation ebenfalls bei —70° durch und erhält den Ester (VII) in schönen roten Nadeln vom Schmp. 110—111°. Das UV-Maximum liegt bei 411 mμ (Fig. 1).

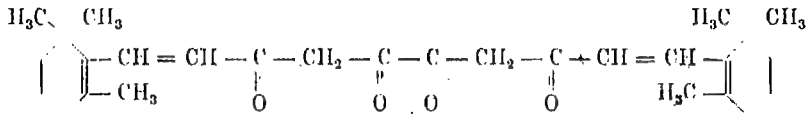


Bis-Kondensation mit Oxalester

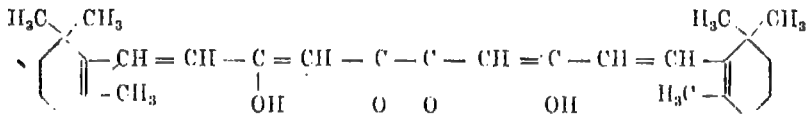
Führt man die Reaktion mit 2 Molen Keton und alkoholfreiem Natriumäthylat in absolutem Äther durch, so geht die Reaktion weiter

[7]) Arens und van Dorp, Nature **157**, 190 (1946); Rec. **65**, 338 (1946). Karrer, Helv. **29**, 704 (1946). Heilbron, J. Chem. Soc. **1946**, 866. Vgl. auch Anm. 1.

zu Tetraketonen. So erhält man aus β-Jonon und Oxalester folgende Verbindung VIIIa bzw. VIIIb.



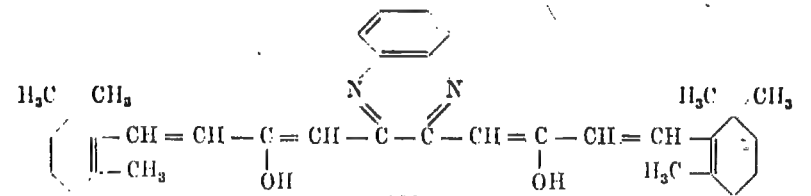
VIIIa



VIIIb

Die Substanz kristallisiert in gelborangen Nadeln vom Schmp. 155°. Auf Grund des UV-Spektrums (Fig. 3) muß man annehmen, daß auch hier die Dienolform (VIIIb) vorliegt. Zu der gleichen Verbindung gelangt man, wenn der Mono-jonon-oxalester (I) nochmals mit einem Mol β-Jonon kondensiert wird.

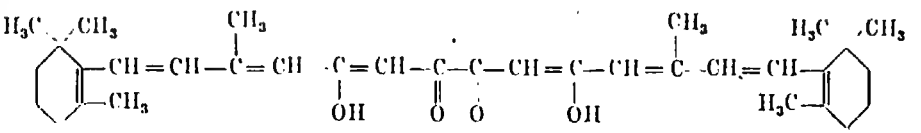
Die o-Diketongruppierung wurde durch Überführung in das *Chinoxalinderivat* (IX) nachgewiesen.



IX

Das Chinoxalin bildet hellrote Kristalle vom Schmp. 157—158° (UV-Maximum $\lambda = 415\ m\mu$ [$\varepsilon = 46500$]).

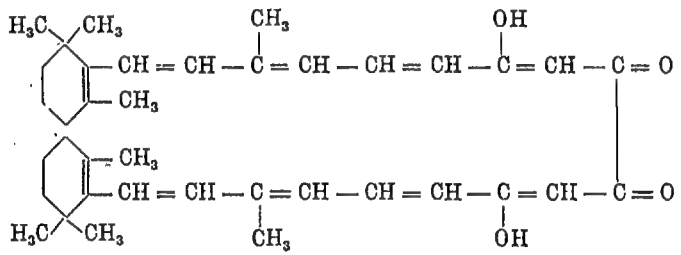
Die gleiche Reaktion führt beim C_{16}-Keton zur analogen Verbindung X:



X

Auch hier ist eine Dienolform anzunehmen. Das UV-Maximum liegt bei 420 mμ. Das Chinoxalin hat sein Absorptionsmaximum bei etwa 450 mμ.

Alle Versuche, mit Natriumäthylat in Äther beim C_{18}-Keton ein Tetraketon zu erhalten, schlugen fehl. Mit Lithiumäthylat oder Kaliumäthylat konnte das gewünschte Produkt ebenfalls nicht erhalten werden. Ebenso wurde mit Pyridin und Kaliumäthylat nach *Kuhn*[8]) keine kristallisierte Verbindung gefaßt. Wir versuchten nun, die C_{18}-Keton-mono-oxalesterverbindung nochmals mit C_{18}-Keton zu kondensieren. Während die Reaktion beim Jonon keine Schwierigkeiten bereitete, gelang sie beim C_{18}-Keton nicht. Erst bei Anwendung von $NaNH_2$ als Kondensationsmittel konnte das gewünschte Tetraketon (XI) erhalten werden:



XI

Die dunkelroten Kristalle schmelzen bei 194°. Das Absorptionsmaximum liegt bei 450 mμ. Bei diesem Tetraketon haben wir schon die *ganze Kettenlänge des β-Carotins* vor uns, es fehlen lediglich zwei seitenständige Methylgruppen.

Konstitution und Farbe der neuen Verbindungen

Die Auswertung der Spektren gibt einen interessanten Zusammenhang zwischen Konstitution und Lichtabsorption. Für die Lage des Maximums bei einfachen Polyenen gelten bestimmte Gesetzmäßigkeiten. Jede konjugierte Doppelbindung bewirkt eine Verschiebung des Maximums ins Langwellige. Man kann also bei einer neuen Verbindung auf Grund der Anzahl der vorhandenen konjugierten Doppelbindungen die ungefähre Lage des Absorptionsmaximums vorausberechnen und umgekehrt.

Bei den Mono-Oxalesterverbindungen haben wir die Endgruppierung —CO-COOR vor uns, die in Konjugation mit mehreren konjugierten Doppelbindungen steht. Der Acetylbrenztraubensäureester absorbiert bei 284 mμ (Fig. 1, Kurve 4). Die Absorption wird bewirkt durch die Gruppierung —CO-COOR. Durch das Hinzutreten von konjugierten Doppelbindungen wird das Maximum ins Langwellige verschoben,

[8]) Kuhn und Grundmann, B **69**, 1757 (1936), **70**, 1151 (1937).

und zwar bewirkt jede konjugierte Doppelbindung eine Verschiebung um 20—30 mμ und eine entsprechende Erhöhung der Extinktion. Die Spektren (Fig. 1) zeigen, daß wir ein konjugiertes System annehmen müssen, es liegen also die Enolformen vor, da bei den Ketoformen die Konjugation unterbrochen ist. Etwas anders liegen die Verhältnisse bei den Bis-Kondensationsprodukten. Hier haben wir in der Mitte die o-Diketon-Gruppierung, deren Absorptionsmaximum bei etwa 280 mμ liegt. An beiden Seiten ist nun noch eine Kette von konjugierten Doppelbindungen angegliedert. Wie aus Fig. 3 zu ersehen ist, erhalten wir Absorptionsmaxima, die nicht auf die Wirkung aller konjugierten Doppelbindungen zurückgeführt werden können. Offenbar ist für die Absorption hauptsächlich nur die eine Kette und die o-Diketon-Gruppierung verantwortlich. Allerdings bewirkt die zweite Kette eine geringe Verschiebung der Lichtabsorption ins Langwellige. Ähnliche Beobachtungen hat *Karrer*[9]) gemacht. Er untersuchte Polyen-diketone von folgendem Typus:

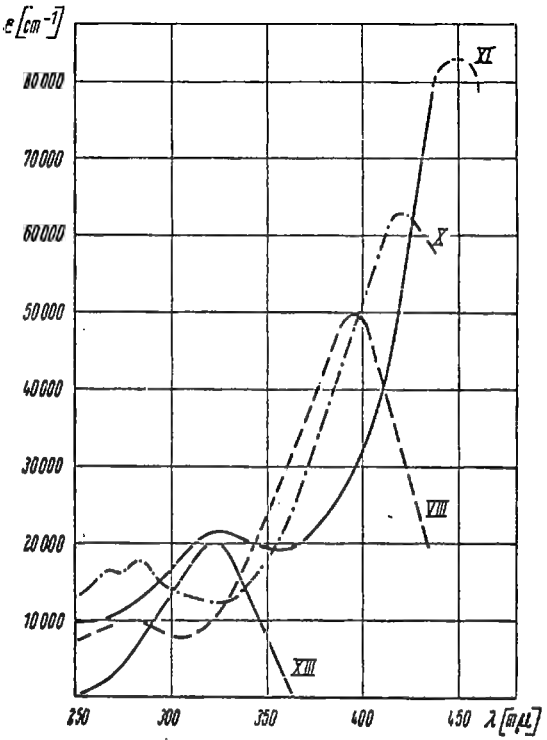


Fig. 3

VIII = C_{28}-Tetraketon X = C_{34}-Tetraketon
XI = C_{38}-Tetraketon XIII = Oxalyldiaceton

$$R-(CH=CH)_x-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-(CH=CH)_x-R \qquad (1)$$

$$R-(CH=CH)_x-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-CH_3 \qquad (2)$$

[9]) Helv. 28, 1181, 1185 (1945), 29, 1836 (1946).

Auch *Karrer* fand, daß für das Zustandekommen der Absorption nur die eine Hälfte des Moleküls einschließlich der Diketongruppe verantwortlich ist. Die erste Verbindung (1) absorbiert nur wenig langwelliger als die zweite (2). Das Hinzutreten eines neuen Chromophors wirkt sich also nicht immer aus, wie z. B. auch ein Vergleich der Spektren von Crotonsäure und Maleinsäure zeigt. Beide Verbindungen haben das gleiche Absorptionsmaximum; die zweite Carboxylgruppe bleibt ohne Einfluß. Bei den Bis-Kondensationsprodukten bewirkt eine Verlängerung der beiden konjugierten Ketten um je eine konjugierte Doppelbindung eine Verschiebung ins Langwellige um etwa 25 mμ. Die Absorptionsmaxima der Kondensationsprodukte des C_{16}-Ketons reihen sich gut ein, was nochmals für die Konstitution des Ketons spricht.

Interessant ist, daß alle diese Substanzen deutliche Solvatochromie zeigen, d. h. in verschiedenen Lösungsmitteln lösen sie sich mit verschiedener Farbe. Die Solvatochromie tritt wahrscheinlich deshalb auf, weil durch Lösungsmittel das Gleichgewicht Keto-Enolform verschoben wird. Obwohl wir bereits in Äther eine weitgehende Enolisierung annehmen müssen, wird der Schwerpunkt der Absorption durch Lösungsmittel mit hoher Dielektrizitätskonstante noch weiter ins Langwellige verschoben. So ist z. B. die Mono-C_{18}-Keton-oxalesterverbindung (VII) in Benzol und Äther gelb, in Methanol orangegelb und in Eisessig orangerot. Um diese Einflüsse auszuschalten, wurden alle Spektren in Äther gemessen.

Experimenteller Teil

Mono-Aceton-oxalester-Verbindung (XII)
(Acetyl-brenztraubensäureäthylester)

Diese Substanz wurde nach der Vorschrift aus den Org. Synth.[10]) dargestellt. Kp. (12 mm) 101—103°. Zum Spektrum wurden einige Tropfen aus der Mittelfraktion entnommen.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 284$ mμ ($\varepsilon = 7400$) in Äther (Fig. 1).

Oxalyl-diaceton (XIII)[11]) aus Aceton und Oxalester in Äther mit Na-Alkoholat. Aus Methanol weiße Nadeln, Fp. 121—123°.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 324$ mμ ($\varepsilon = 20\,000$) in Äther (Fig. 3).

Mono-β-Jonon-oxalester-Verbindung (I)

Eine Lösung von 430 mg Natrium in 9 ccm Methanol wurde auf —70° gekühlt und unter Umschütteln mit 3 ccm Oxalester versetzt. Es entstand ein weißer Kristallbrei: Anlagerungsverbindung von Na-Methylat an Oxalester. Darauf wurden 3 ccm β-Jonon hinzugetropft. Reaktion trat nicht ein. Nachdem noch einige Minuten weiter bei —70° gekühlt wurde, entfernte man das Kühlbad und ließ das Reaktionsgemisch unter Umschütteln auf Zimmertemperatur kommen.

[10]) Org. Synth. 6. 40.
[11]) Claisen, B. 21, 1142 (1888).

Dabei löste sich der weiße Niederschlag allmählich auf, und es entstand eine klare orange Lösung. Man ließ einige Stunden stehen. Nach einiger Zeit kristallisierte das gelbe Enolat aus. Nach Zugabe von Äther und Zersetzen mit n-Schwefelsäure erhielt man eine gelbe Ätherlösung, die zweimal mit Wasser gewaschen wurde. Nach Abdampfen des Äthers wurde der kristalline Rückstand aus Alkohol umkristallisiert: Hellgelbe Nadeln, Schmp. 84°. Ausbeute 2,7 g (62 % d. Th.).

$C_{16}H_{22}O_4$ (278,34)[12]) Ber. C 69,04 H 7,97
Gef. ,, 68,94 ,, 7,93.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 360$ mμ ($\varepsilon = 20\,000$) (in Äther) (Fig. 1).
Mit $SbCl_3$ gab die Substanz eine orange Färbung in Chloroform.

C_{16}-Keton (III)

β-Jonyliden-acetonitril[6]). 22 g β-Jonon, 10 g Cyanessigsäure, 1,1 g Ammoniumacetat und 1,1 g Acetamid wurden in 30 ccm Eisessig mit einer kleinen Widmer-Kolonne 15 Stunden auf 145—150° erhitzt. Dabei gingen etwa 15 ccm Wasser und Essigsäure über. Nach dem Erkalten wurde in Wasser eingegossen und ausgeäthert. Dann wurde mit Wasser, Bicarbonat und nochmals mit Wasser neutral gewaschen, getrocknet mit Na_2SO_4 und der Äther abdestilliert. Der dunkelbraune Rückstand wurde im Hochvakuum destilliert. Gelbes Öl, Sdp. (0,001 mm) 110—130°. Ausbeute 14 g.

Umsetzung mit Methylmagnesiumjodid

Aus 3 g Magnesium und 17 g Methyljodid in 25 ccm Äther wurde eine Grignardlösung hergestellt. Man fügte 30 ccm Anisol hinzu und erhitzte etwa 30 Minuten auf 100° (Bad). Dann wurden 14 g β-Jonyliden-acetonitril in 20 ccm Anisol unter Rühren innerhalb einer Viertelstunde hinzugetropft. Die lebhafte Reaktion wurde durch halbstündiges Erhitzen auf 90° vervollständigt. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch mit Eis und Salzsäure zersetzt und ausgeäthert. Die mit Wasser gewaschene Ätherlösung wurde unter Stickstoff 24 Stunden mit 2n-H_2SO_4 geschüttelt, wobei noch nicht hydrolysiertes Ketimin gespalten wird. Die Ätherlösung wurde dann neutral gewaschen, getrocknet und i. V. auf dem Wasserbad eingedampft. Das zurückbleibende braune Öl wurde im Hochvakuum destilliert.

Gelbes Öl, Sdp. (0,01 mm) 105—130°. Ausbeute 9 g.

Das Öl wurde in 75 ccm abs. Alkohol mit 8 g Girard P und 7,5 ccm Eisessig eine Stunde unter Rückfluß gekocht, nach dem Erkalten in 350 ccm Eiswasser und 16 g K_2CO_3 eingegossen und die nichtketonischen Anteile mit Äther extrahiert. Die wäßrige Lösung wurde mit konz. Salzsäure angesäuert ($p_H = 1$). Nach einer Stunde wurde ausgeäthert, neutral gewaschen und getrocknet. Nach Verdampfen des Äthers hinterblieb ein leicht orange gefärbtes Öl (5,8 g). Zur weiteren Reinigung wurde in Petroläther an Al_2O_3 chromatographiert. Eine Spur blieb in der Säule haften, der Rest wurde mit Petroläther eluiert. Nach Abdampfen des Petroläthers unter Stickstoff blieben 5,7 g eines gelben Öles zurück.

Eine Probe des Öls wurde mit Semicarbazid-acetat in 75proz. Alkohol in das *Semicarbazon* überführt. Nach Stehen über Nacht wurden die weißen Nadeln abgesaugt; sie waren praktisch rein. Aus Methanol Schmp. 165—166°. Die Ausbeute war nahezu quantitativ.

$C_{17}H_{27}ON_3$ (289,41) Ber. C 70,55 H 9,40 N 14,52
Gef. ,, 70,79 ,, 9,38 ,, 13,78.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 308$ mμ ($\varepsilon = 27\,000$) (in Alkohol) (Fig. 2).

[12]) Alle Analysen wurden von Dr.-Ing. A. Schoeller ausgeführt.

Mono-C_{16}-Keton-Oxalester-Verbindung (IV)

Eine Lösung von 116 mg Natrium in 2,9 ccm Methanol wurde auf —70° gekühlt und unter Umschütteln mit 1,2 ccm Oxalester versetzt. Darauf wurde 1 ccm C_{16}-Keton zugegeben. Keine Reaktion. Man ließ unter Umschütteln langsam auf Zimmertemperatur kommen. Die Anlagerungsverbindung des Methylats an Oxalester löste sich auf. Die Lösung verfärbte sich über gelbbraun in dunkelbraun. Schon nach ¼ Std. begann die Abscheidung des gelbbraunen Enolats. Nach einigen Stunden versetzte man mit Äther und zersetzte mit n-H_2SO_4. Die Ätherlösung war rot gefärbt. Sie wurde zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das Kondensationsprodukt kristallisierte bereits auf dem Wasserbade. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Alkohol schmolzen die gelbbraunen Nadeln bei 135°. Ausbeute 500 mg = 37 %.

$C_{19}H_{26}O_4$ (318,40) Ber. C 71,67 H 8,23
Gef. „ 71,50 „ 8,44.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 380\ m\mu$ ($\varepsilon = 32\,000$) (in Äther) (Fig. 1).

Mit $SbCl_3$ weinrote Färbung.

C_{17}-Säure (V)

224 g β-Jonon wurden in 600 ccm thiophenfreiem Benzol gelöst und mit 170 g entfettetem und mit Salzsäure gewaschenem Zinkgries versetzt. Man erhitzte unter Rühren zum Sieden und tropfte einen Teil einer Lösung von 338 g γ-Bromcrotonsäuremethylester in 1000 ccm Benzol hinzu. Der Reaktionsbeginn war an der Gelbgrünfärbung und dem lebhaften Aufsieden der Lösung zu erkennen. Man entfernte das Heizbad und regelte den Zulauf von Bromester so, daß die Reaktionsmischung im lebhaften Sieden blieb (30 Min.). Dann erhitzte man weitere 30 Min. zum Sieden und zersetzte nach dem Abkühlen mit 2 *l* 8proz. Essigsäure unter kräftigem Schütteln im Scheidetrichter. Die Benzollösung wurde neutral gewaschen und i. V. eingedampft. Nicht umgesetztes β-Jonon wurde an der Ölpumpe abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum bei 0,01 mm und 130—190° (Bad) destilliert. Man erhielt etwa 200 g Rohester, der mit der gleichen Gewichtsmenge wasserfreier Oxalsäure 2 Std. i. V. auf 110° erhitzt wurde. Nach dem Erkalten wurde mit Petroläther ausgezogen, eingedampft und mit 900 ccm 10proz. methylalkoholischer KOH 2 Std. auf dem Wasserbad gekocht. Nach dem Erkalten wurde in Wasser gegossen und zweimal ausgeäthert. Die wässerige Schicht wurde mit verd. H_2SO_4 kongosauer gemacht und dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen mit Sulfat wurde auf etwa 250—300 ccm eingeengt, wobei die Säure bereits auf dem Wasserbad kristallisierte. Zur Vervollständigung der Kristallisation wurde mit Petroläther versetzt. Nach einigen Stunden wurde abgesaugt, mit Petroläther/Äther (10:1) gewaschen und aus

Aceton umkristallisiert. Gelbe, derbe Kristalle, Schmp. 158—160°. Ausbeute 50—60 g.

$C_{17}H_{24}O_2$ (260,36) Ber. C 78,42 H 9,29
Gef. ,, 78,10 ,, 9,29.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 324$ mμ ($\varepsilon = 33\,500$) (in Alkohol) (Fig. 4).

Aus der Mutterlauge erhielt man nach längerem Stehen noch etwa 5 g einer *isomeren* Säure vom Schmp. 141—143° (aus Aceton).
Absorptionsmaximum: $\lambda = 323$ mμ ($\varepsilon = 23\,750$) (in Alkohol) (Fig. 4).

$C_{17}H_{24}O_2$ Ber. C 78,42 H 9,29
Gef. ,, 78,33 ,, 9,44.

C_{18}-Keton (VI)

Man stellte aus 2,3 g Li in 400 ccm abs. Äther und 25 g Methyljodid eine Lithiummethyllösung her. Diese Lösung goß man durch einen Glaswollepfropfen zu 13 g C_{17}-Säure in 500 ccm abs. Äther. Unter lebhafter Gasentwicklung entstand ein gelber Niederschlag, der sich bei weiterer Zugabe von $LiCH_3$ wieder lösen muß. Nach einer Stunde wurde mit Wasser zersetzt und die Ätherlösung neutral gewaschen. Die getrocknete Lösung wurde eingedampft und das erhaltene Rohketon ohne weitere Reinigung in das *Semicarbazon* überführt.

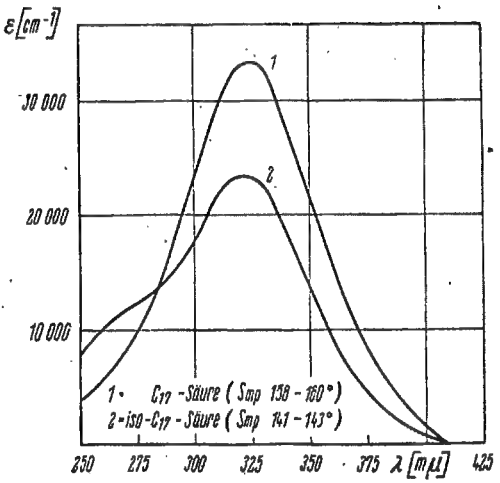


Fig. 4

Zu diesem Zwecke wurden 7,5 g Semicarbazid-chlorhydrat mit 10 g wasserfreiem Natriumacetat zerrieben und in 60 ccm abs. Alkohol aufgenommen. Diese Lösung filtrierte man direkt zum Keton und erhitzte 30 Minuten zum Sieden. Nach dem Erkalten kristallisierte das Semicarbazon aus. Man ließ einige Zeit im Eisschrank stehen und saugte ab. Aus Methanol umkristallisiert, erhielt man gelbe Kristalle, Schmp. 184—186°. Ausbeute 11—13 g.

$C_{19}H_{29}ON_3$ Ber. C 72,34 H 9,26 N 13,32
Gef. ,, 72,50 ,, 9,05 ,, 12,86.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 342$ mμ ($\varepsilon = 57\,500$) (in Alkohol) (Fig. 2).

10 g des Semicarbazons wurden in einer dunklen Flasche mit 500 ccm Petroläther (Kp. 30—40°), 100 ccm 2n H_2SO_4 und 100 ccm Eisessig 40—50 Stunden unter N_2 geschüttelt. Das Semicarbazon hatte sich praktisch vollständig gelöst. Die Petrolätherschicht wurde neutral gewaschen, getrocknet und eingeengt. Das Konzentrat wurde an Al_2O_3 in Petroläther chromatographiert. Das reine Keton wurde mit Petrol-

äther eluiert, eine kleine Harzzone blieb in der Säule haften. Nach Abdampfen des Petroläthers erhielt man das *Keton* (7,5—8 g), das für alle weiteren Umsetzungen genügend rein ist. Mit Semicarbazid-acetat erhielt man in über 90% Ausbeute das Semicarbazon vom Schmp. 185—186° zurück. Der Mischschmp. ergab keine Depression.

Mono-C_{18}-Keton-Oxalesterverbindung (VII)

Eine Lösung von 110 mg Natrium in 2.5 ccm Methanol wurde auf −70° abgekühlt und unter Umschütteln zuerst mit 1,2 ccm Oxalester und dann mit 1 ccm C_{18}-Keton versetzt. Keine Reaktion. Man erwärmte langsam auf Zimmertemperatur. Dabei löste sich zunächst die Oxalesteradditionsverbindung auf, dann kristallisierte sofort das gelbe Enolat des Kondensationsproduktes aus. Nach einigen Stunden wurde die Masse mit Äther versetzt und mit n-H_2SO_4 zersetzt. Es entstand eine dunkelrote Ätherlösung, aus der sich bereits rote Kristalle abschieden, die durch Zugabe von viel Äther in Lösung gebracht wurden. Die Ätherlösung wurde zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der kristalline Rückstand wurde aus Alkohol umkristallisiert. Rote Nadeln, Schmp. 107°. Nach mehrmaligem Umkristallisieren erhöhte sich der Schmp. auf 110—111°. Ausbeute 660 mg (= 50% d. Th.). (Alle Reaktionen wurden unter reinem Stickstoff ausgeführt.)

$C_{21}H_{28}O_4$ (344,43) Ber. C 73,23 H 8,19
Gef. „ 73,41 „ 8,16.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 411\ m\mu$ ($\varepsilon = 47\,000$) (in Äther) (Fig. 1).

Mit $SbCl_3$ erhielt man eine intensive braunviolette Färbung.

C_{28}-Tetraketon (VIII)

1. 1 g Natrium wurde unter Xylol gepulvert und dann unter 30 ccm abs. Äther mit 2 ccm abs. Alkohol zum Alkoholat umgesetzt. (2½ Stunden Kochen unter Rühren). Dann kühlte man mit Eis-Kochsalz-Mischung und gab unter Rühren 8 g β-Jonon hinzu und gleich darauf 3 g Oxalester. Man ließ 10 Minuten in der Kältemischung stehen, dann 15 Min. bei Zimmertemperatur und erhitzte schließlich 1 Std. zum Sieden. Man erhielt eine braunrote Lösung. Nach dem Erkalten zersetzte man mit n-H_2SO_4 und wusch die Ätherlösung zweimal mit Wasser, nachdem man durch Zugabe einer weiteren Menge Äther die ausgeschiedenen Kristalle gelöst hatte. Nach dem Abdampfen des Äthers blieb eine ölige Kristallmasse zurück. Sie wurde mit Methanol ausgezogen, wobei das Öl in Lösung ging. Der Rückstand wurde aus Essigester umkristallisiert. Gelborange Kristalle. Schmp. 155°. Ausbeute 2,4 g (= 26 % d. Th.).

$C_{28}H_{38}O_4$ (438.58) Ber. C 76.67 H 8,73
Gef. „ 76,71 „ 8,57.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 395\ m\mu$ ($\varepsilon = 50\,000$) (in Äther)
$285\ m\mu$ ($\varepsilon = 9\,500$) (Fig. 3).

Mit $SbCl_3$ erhält man eine intensive Violettfärbung.

2. Unter Eiskühlung wurden 170 mg β-Jonon und 250 mg Mono-β-Jononoxalester in Äther mit 100 mg $NaNH_2$, suspendiert in Benzol, versetzt. Der anfangs auftretende Brei ging langsam in Lösung. Nach Stehen über Nacht wurde zersetzt und wie üblich aufgearbeitet. Der ölige Rückstand kristallisierte beim Verreiben mit

Methanol. Umkristallisiert aus Essigester wurden etwa 100 mg Kristalle vom Schmp. 155° erhalten, die mit dem obigen Tetraketon keine Depression ergaben.

Chinoxalinderivat vom C_{28}-Tetraketon. 100 mg Tetraketon und 50 mg o-Phenylendiamin wurden in 25 ccm abs. Alkohol eine Stunde gekocht. Nach dem Eindampfen hinterblieb ein roter kristalliner Rückstand, der aus Alkohol umkristallisiert wurde. Fp. 157—158°. (Mit dem Ausgangsprodukt gaben die hellroten Nadeln eine Schmp.-Depression von 15°.)

$C_{34}H_{42}O_2N_2$ (510,69) Ber. C 79,96 H 8,29 N 5,49
Gef. ,, 79,67 ,, 8,06 ,, 5,32.

Absorptionsmaximum: λ = 415 mμ (ε = 46 500) (in Äther).
324 mμ (ε = 24 500)

C_{34}-Tetraketon (X)

0,4 g gepulvertes Natrium wurden unter Äther mit 0,8 ccm abs. Alkohol 2½ Stunden unter Stickstoff erhitzt. Dann kühlte man die Lösung mit Eis-Kochsalz und tropfte unter Umschütteln 4 g C_{16}-Keton und dann 1,2 g Oxalester hinzu. Die Reaktion setzte erst ein, wenn die Mischung auf Zimmertemperatur gekommen war. Nach ¼ Stunde erhitzte man 1 Stunde zum Sieden. Die braune Lösung wurde mit n-H_2SO_4 zersetzt. Die rote Ätherlösung wurde zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Man erhielt einen roten kristallinen Rückstand, der mit Methanol ausgewaschen und aus Essigester umkristallisiert wurde.

Rote Nadeln, Schmp. 183—184°. Ausbeute 985 mg (= 22 % d. Th.).

$C_{31}H_{46}O_4$ (518,71) Ber. C 78.72 H 8.94
Gef. ,, 78,53 ,, 8,76.

Absorptionsmaximum: λ = 420 mμ (ε = 63 500) (in Äther)
285 mμ (ε = 17 500) (Fig. 3).

Mit $SbCl_3$ intensiv blaugrüne Lösung in $CHCl_3$.

Chinoxalinderivat. 100 mg Tetraketon in 20 ccm Benzol und 50 mg o-Phenylendiamin in 8 ccm Alkohol + 1 ccm Eisessig wurden 3 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde auf 5 ccm eingeengt. Durch Anspritzen mit etwas Methanol erhielt man rote Nadeln, die aus Essigester umkristallisiert wurden, Schmp. 159 bis 160°.

$C_{40}H_{50}O_2N_2$ (590,82) Ber. C 81,31 H 8,53 N 4,74
Gef. ,, 81,35 ,, 8,68 ,, 4,83.

Absorptionsmaximum: λ = 450 mμ (ε = 60 000) (in Äther).
338 mμ (ε = 33 500)

C_{38}-Tetraketon (XI)

Zu 200 mg $NaNH_2$, suspendiert in 2 ccm Benzol, wurden unter Eiskühlung 1 ccm C_{18}-Keton getropft, es wurde mit 5 ccm Äther verdünnt und nach einigen Minuten wurden 0,28 ccm Oxalester zugetropft. Unter Dunkelrotfärbung und stürmischer NH_3-Entwicklung setzte die Reaktion ein. Man kühlte weitere 10 Minuten mit Eis, ließ dann auf Zimmertemperatur kommen und erhitzte schließlich ¾ Stunden zum Sieden. Nach Erkalten wurde mit n-H_2SO_4 zersetzt und ausgeäthert. Die rote Ätherlösung wurde zweimal mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Das dunkelrote Öl wurde mit Methanol ausgezogen. Der Rückstand wurde mit Essigester auf-

gekocht und nach dem Erkalten erhielt man einen feinpulverigen roten Niederschlag, der aus viel Essigester umkristallisiert wurde. Dunkelrote glänzende Kristalle, Schmp. 194°. Ausbeute 30 mg.

Die Substanz gab mit $SbCl_3$ in $CHCl_3$ eine intensiv blaugrüne Lösung. (Alle Reaktionen wurden unter Stickstoff ausgeführt.)

$C_{38}H_{50}O_4$ (570,78) Ber. C 79,46 H 8,83
Gef. „ 79,72 „ 8,96.

Absorptionsmaximum: $\lambda = 450\ m\mu$ ($\varepsilon = 86\,000$) (in Äther) (Fig. 3).

Synthesen in der Carotinoidreihe, II [1]

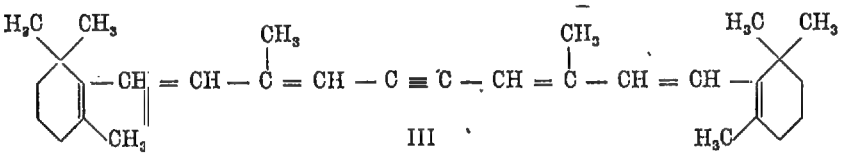
Über die Synthese eines Kohlenwasserstoffes $C_{30}H_{42}$

Von *Hans Herloff Inhoffen*, *Horst Pommer* und *Ferdinand Bohlmann*

(Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig)

(Eingelaufen am 12. Juli 1948)

In der Reihe unserer Synthesen von Carotinoiden haben wir ausgehend vom sog. β-C_{14}-Aldehyd[2]) folgenden Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{42}$ dargestellt.



III

Der C_{14}-Aldehyd wurde nach der Vorschrift von Isler, Huber, Ronco und Kofler[2]) dargestellt und durch mehrere gut kristallisierende Derivate weiter charakterisiert.

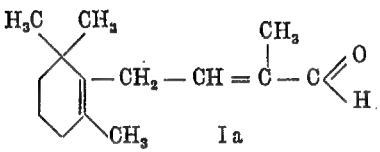
	Schmp.	U. V. Maximum
Semicarbazon	156°	265 $m\mu$ ($\log \varepsilon = 4{,}54$)
Phenylsemicarbazon	184°	279 „ („ $= 4{,}55$)
Thiosemicarbazon	200°	299 „ („ $= 4{,}58$)
Dinitrophenylhydrazon	164,5°	385 „ („ $= 4{,}52$)
Nitrophenylhydrazon	169°	405 „ („ $= 4{,}55$)

Ein Vergleich mit den von Heilbron[2]) angegebenen Eigenschaften zeigt, daß unsere Schmelzpunkte allgemein etwas höher liegen. Durch

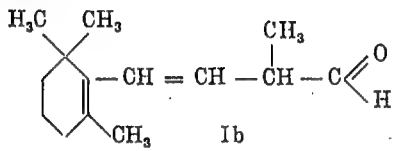
[1]) I. Mitteil. H. H. Inhoffen, F. Bohlmann, K. Bartram, A. **561** (1948).

[2]) Ishikawa u. Matsuura, C. **108**, II, 3452 (1937). — Heilbron, Soc. **1942**, 727, **1946**, 502. — Isler, Huber, Ronco und Kofler, Helv. **30**, 1922 (1947).

Aufnahme des Ramanspektrums[3]) wurde die von Heilbron angegebene Struktur Ia gestützt (vgl. dagegen Milas[4]). Es fehlt die Linie bei 1720 cm^{-1}, die für eine isolierte Aldehydgruppe charakteristisch ist, während für die Konstitution Ia bei Konjugation mit der Aldehydgruppe die erwarteten Linien (1630 und 1680 cm^{-1}) klar herauskommen (vgl. Kohlrausch[5]). Auf Grund des Ramanspektrums muß man also die Formulierung von Milas (Ib) ausschließen.

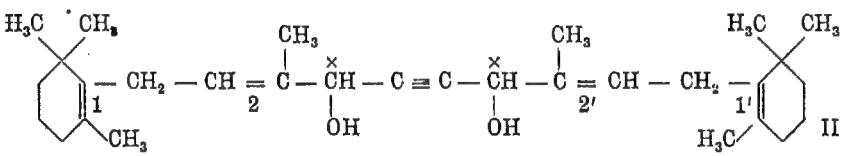


Ia



Ib

Durch Umsetzung zwischen β-C_{14}-Aldehyd und Acetylen-dimagnesiumbromid in ätherischer Lösung gelangten wir zu einem Acetylenglykol von der Zusammensetzung $C_{30}H_{46}O_2$ (II).



II

Das Glykol II stellt ein Isomerengemisch dar. Auf Grund der beiden asymmetrischen C-Atome (x) und der Doppelbindungen 2 und 2″ wären 6 Isomere zu erwarten. Wir versuchten diese Isomeren möglichst weitgehend aufzutrennen. Durch mehrfaches Umkristallisieren aus Cyclohexan erhielten wir bei zahlreichen Ansätzen jeweils eine Fraktion vom Schmp. 153° (IIa). Aus den eingedunsteten Mutterlaugen ließ sich mit Petroläther ein weiteres Kristallisat isolieren, dessen Schmp. auch nach mehrfachem Umkristallisieren aus Petroläther (30—50°) bei 120,5° blieb (IIb). Durch Umlösen von IIa aus Essigsäureanhydrid erhielten wir Kristalle vom Schmp. 161° (IIc). Es zeigte sich jedoch, daß diese instabil waren und sich im Verlaufe mehrerer Wochen wieder in das Glykol IIa vom Schmp. 153° umlagerten. Durch erneute Behandlung mit Essigsäureanhydrid konnte diese Erscheinung wiederholt werden.

Es gelang nicht, die beiden sekundären Hydroxyle der isomeren Glykole in Estergruppen überzuführen; dieser Befund steht jedoch im Einklang mit analogen Befunden anderer Autoren[6]). Alle 3 Kristall-

[3]) Das Ramanspektrum wurde von Herrn Doz. Dr. H. Luther v. Inst. f. Chem. Technologie d. T. H. Braunschweig gemessen, wofür wir ihm an dieser Stelle unseren Dank sagen.

[4]) Vitamins and Hormones, Vol. 5, S. 1—38.

[5]) „Ramanspektroskopie", Leipzig 1943.

[6]) Deemer, Lutwak, Strong, Am. Chem. Soc. 70, 154, (1948).

fraktionen zeigten im Ultraviolett nur Endabsorption. Wir sehen darin einen weiteren Beweis für die Struktur des β-C_{14}-Aldehyds im Sinne von Heilbron.

Aus den drei Glykolfraktionen $C_{30}H_{46}O_2$ erhielten wir durch Allylumlagerung und Wasserabspaltung einen Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{42}$ (III).

Allylumlagerung und Wasserabspaltung gelangen mit p-Toluolsulfosäure und Jod in Toluol. Hierbei ist zu bemerken, daß sich die Wasserabspaltung bei dem Isomerengemisch vom Schmp. 120,5° durch alleinige Anwendung von p-Toluolsulfosäure bewirken ließ, während bei den beiden anderen Fraktionen es vorteilhafter war, zuerst eine Allylumlagerung mit Jod durchzuführen und anschließend mit p-Toluolsulfosäure Wasser abzuspalten. Aus allen drei Glykol-Isomeren erhielten wir so den *gleichen* Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{42}$ (III). Er kristallisiert in feinen gelben Nadeln vom Schmp. 102°. Die angegebenen Konstitutionen wurden durch Perhydrierung sowohl des Glykols (II) als auch des Kohlenwasserstoffs (III) erhärtet, wobei 6 bzw. 8 Mol Wasserstoff aufgenommen wurden. Das Ultraviolett-Absorptionsspektrum von III zeigte ein breites Maximum zwischen 350 und 370 mμ[7]). Unser neuer Kohlenwasserstoff stellt den ersten synthetischen Carotinoid-Kohlenwasserstoff mit 30 C-Atomen dar, der das gleiche mittlere Gerüst von 10 Kohlenstoffatomen enthält wie das natürliche Carotin. Zwischen dieser Kette und den beiden Cyclocitralresten fehlt je eine Isoprengruppe.

Beschreibung der Versuche[8,9])

β-C_{14}-Aldehyd (*I*). C_{14}-Aldehyd wurde nach der Vorschrift von Isler, Huber, Ronco und Kofler[2]) dargestellt. Sdp. 95 — 100°/0,01 mm.

Nach 2-maliger Destillation $n_D^{24} = 1{,}5116$, $D_4^{24} = 0{,}9493$, M_R ber. = 63,73, gef. 65,16.

Ramanaufnahme[3]). Es wurde mit der grünen Hg-Linie bei 5467 Å 20 Stunden belichtet. Das Spektrum zeigte folgende Linien: 239 (1), 261 (2), 422 (4), 566 (3), 647 (2), 747 (1), 791 (1), 898 (1), 1174 (2), 1215 (2), 1627 (5), 1681 (5) cm^{-1}.

Semicarbazon (vgl. Heilbron[2]). 0,1 g C_{14}-Aldehyd wurden mit 150 mg Semicarbazid-chlorhydrat und 150 mg Natriumacetat in 1 ccm 60proz. Alkohol 15 Min. auf dem Wasserbade erwärmt. Weiße Kristalle, die aus Methanol-Wasser umkristallisiert wurden. Die glänzenden weißen Blättchen schmolzen bei 155,5—156°. Mischschmp. mit β-Jonon-semicarbazon (148°), starke Depression. Absorptionsmaximum $\lambda = 265$ mμ ($\varepsilon = 35000$).[9])

$C_{15}H_{25}ON_3$ (263,3) Ber. C 68.40 H 9,57 N 15,95
Gef. „ 68,02 „ 9,63 „ 16,00.

[7]) Die Feinstruktur der U.V.-Absorptionsspektren konnte leider nicht erhalten werden, weil nur Aufnahmen mit Hilfe von Hg-Linien zur Verfügung standen.

[8]) Alle Analysen wurden von Herrn Dr. A. Schoeller, Kronach, ausgeführt.

[9]) Die U.V.-Spektren wurden von Herrn Dr. H. Dannenberg, Tübingen, gemessen.

Phenyl-semicarbazon[2]). 0,1 g C_{14}-Aldehyd mit 150 mg Phenyl-semicarbazid-HCl und 150 mg Natriumacetat in 1 ccm Alkohol 30 Min. auf dem Wasserbad erwärmt. Weiße Kristalle, umkristallisiert aus Methanol, Schmp. 184°. Absorptionsmaximum $\lambda = 279$ mμ ($\varepsilon = 35500$).

Thiosemicarbazon.[2]) 0,1 g C_{14}-Aldehyd in 1,2 ccm Alkohol mit 0,07 g Thiosemicarbazid in 0,4 ccm Wasser 2 Std. auf dem Wasserbad erwärmt. Sofort weiße Nadeln, umkristallisiert aus Methanol. Schmp. 200°. Absorptionsmaximum $\lambda = 299$ mμ ($\varepsilon = 38000$).

p-Nitrophenylhydrazon: 0,1 g C_{14}-Aldehyd und 0,1 g p-Nitrophenylhydrazin in 5 ccm Alkohol und 1 Tr. Eisessig 30 Min. auf dem Wasserbad erwärmt. Orange Kristalle, umkristallisiert aus Alkohol, Schmp. 168—169°. Absorptionsmaximum ca. 405 mμ ($\varepsilon = 35500$).

$C_{20}H_{27}O_2N_3$ (341,42) Ber. C 70,35 H 7,97 N 12,30
Gef. „ 70,40 „ 7,86 „ 12,08.

2,4-Dinitrophenylhydrazon.[2]) 0,1 g C_{14}-Aldehyd und 0,09 g Dinitrophenylhydrazin in 5 ccm Alkohol und 0,1 ccm HCl 2 Min. gekocht. Rote Blättchen aus Alkohol Schmp. 164,5°. Absorptionsmaximum $\lambda = 385$ mμ ($\varepsilon = 33500$).

Darstellung des Glykols $C_{30}H_{46}O_2$ (II)

Aus 27 g Äthylbromid und 6 g Magnesiumspänen in 300 ccm abs. Äther wurde eine Grignardlösung hergestellt. In diese wurde bis zur Sättigung bei Zimmertemperatur ein lebhafter Strom reinen trockenen Acetylens eingeleitet (Dauer 8—10 Stunden). Nach dieser Zeit hatte sich das gebildete Acetylen-dimagnesiumbromid als dickes Öl am Boden abgesetzt. Nun wurde der überstehende Äther vorsichtig durch Stickstoff herausgedrückt, 2mal mit reinem abs. Äther nachgewaschen und schließlich 250 ccm Äther zugesetzt. Unter ständigem Rühren wurden 17 g C_{14}-Aldehyd in 100 ccm abs. Äther ziemlich schnell zugetropft, dabei wurde das Reaktionsgefäß mit Wasser gekühlt. Nach 12 Stunden wurde ebenfalls unter guter Kühlung mit 10proz. Schwefelsäure zersetzt. Dann wurde die Ätherlösung abgehoben und einmal mit Wasser gewaschen. Nach Trocknen mit Natriumsulfat wurde der Äther abgedampft. Der Rückstand mit 200 ccm Petroläther (Sdp. 40—50°) versetzt, wobei nach kurzer Zeit Kristallisation einsetzte, die durch 24-stündiges Stehen im Eisschrank (—10°) beendet wurde.

Rohausbeute: 11 g weiße Kristalle.

Beim Abdampfen der Mutterlauge hinterblieb ein dickflüssiges Öl (5 g). Dieses Öl wurde mit 5 g Girard P in 100 ccm abs. Alkohol[10]) von Carbonyl-Anteilen befreit. Aus dem ätherlöslichen Teil konnte eine weitere Menge Glykol kristallisiert isoliert werden (etwa 0,5 g). Durch fraktionierte Kristallisation konnten aus dem Rohglykol drei Fraktionen erhalten werden.

IIa. weiße Nadeln, Schmp. 153° (aus Cyclohexan). Im U.V. nur Endabsorption.

$C_{30}H_{46}O_2$ (438,67) Ber. C 82.14 H 10,57
Gef. „ 82.36 „ 10,73.

IIb. weiße Nadeln, Schmp. 120,5° (aus Petroläther 30—50°). Nur Endabsorption im U.V.

Gef. C 81.90 H 10,49.

IIc. weiße Nadeln, Schmp. 161°, durch Umkristallisieren von IIa aus Essigsäureanhydrid. Nur Endabsorption im U.V.

Gef. C 81,83 H 10,49.

[10]) P. Karrer und J. Benz, Helv. 31, 392 (1948).

Perhydrierung von IIa. 496,1 mg Substanz wurden mit 200 mg Platinoxyd in 20 ccm Eisessig mit Wasserstoff geschüttelt. Nach Aufnahme von insgesamt 150,5 ccm H_2 (red.) blieb die Hydrierung stehen. Ber. für 6 Mol H_2 152,0 ccm.

Bromaddition an IIa. 51,6 mg Sbst. verbrauchten 103,1 mg Brom (in CCl_4). Ber. für 6 Mol Brom 112,7 mg.

Bestg. des aktiven H in IIa. 44,7 mg Sbst. gaben 4,6 ccm CH_4 (red.). Ber. für 2 OH 4,57 ccm.

Gleiche Bestg. am perhydrierten Glykol. Das nach der Hydrierung in Eisessig anfallende perhydrierte Glykol war teilweise acetyliert. Es wurde mit 5proz methylalk. KOH durch 2stündiges Kochen auf dem Wasserbad verseift. Nach üblicher Aufarbeitung durch Verdünnen und Ausäthern der wäßrigen Lösung sowie Neutralwaschen, Trocknen und Verdampfen der ätherischen Lösung wurde das zurückbleibende Öl im Hochvakuum bei 80° getrocknet. Es hinterblieb eine nahezu feste Substanz. 63,1 mg, 36,6 mg Sbst.: 6,08 ccm, 3,87 ccm CH_4 (red.) ber. 6,26 ccm 3,65 ccm f. 2 akt. H. Sämtliche Glykole zeigten mit Antimontrichlorid eine rotviolette Färbung.

Der Kohlenwasserstoff $C_{30}H_{42}$

Aus dem Glykol IIa, Schmp. 153°. 500 mg C_{30}-Glykol (Schmp. 153°) wurden in 75 ccm abs. Toluol gelöst und die Lösung zum schwachen Sieden erhitzt. Nun wurden 3 mg Jod, in 2 ccm Toluol heiß gelöst, zugefügt. Nach 30 Min. wurden 5 mg p-Toluolsulfosäure, in 10 ccm Toluol gelöst, zur siedenden Lösung gegeben. Alsbald schlug die Farbe nach gelborange um. Nach weiteren 20 Min. Kochen ließen wir erkalten und fügten 300 ccm Petroläther (40—50°) hinzu. Die Lösung wurde mit einer Thiosulfatlösung ausgeschüttelt, mit Wasser gewaschen und nun mit 600 ccm 90proz. Methanol weiter ausgezogen. Dann wurde über Natriumsulfat getrocknet und i. V. eingedunstet. Es hinterblieb ein zähes, fast festes orangegefärbtes Öl. Dieses wurde in 5 ccm Isoamylalkohol heiß gelöst und nach Erkalten mit Methanol angespritzt. Es fielen gelbe Kristalle aus. Nun stellten wir 12 Stunden bei —10° in den Eisschrank und isolierten die Kristalle durch Absaugen und Waschen mit Methanol. Durch 2maliges Umkristallisieren aus abs. Äthylalkohol konnten 100 mg gelber Nadeln vom Schmp. 102° erhalten werden.

$C_{30}H_{42}$ (402,64) Ber. C 89,48 H 10,51
Gef. „ 89,05 „ 10,70.

2. Aus dem Glykol IIb, Schmp. 120,5°: 1 g C_{30}-Glykol wurde in 80 ccm Toluol in der Siedehitze mit 10 mg p-Toluolsulfosäure in Toluol versetzt. Schlagartige Gelbfärbung und Abscheidung von Wassertröpfchen. Wir erhitzten noch 30 Min. zum Sieden. Nach dem Abkühlen wurden 500 ccm Petroläther (40—50°) zugesetzt und mit insgesamt 1000 ccm 90proz. Methanol mehrmals ausgeschüttelt. Die Petrolätherlösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und i. V. eingedunstet. Es hinterblieb ein fast festes, orangegefärbtes Öl. Dieses nahmen wir in 10 ccm heißem Isoamylalkohol auf und spritzten mit Methanol an. Nach Zugabe eines Impfkristalles des Kohlenwasserstoffs aus IIa fiel schlagartig ein gelber Kristallbrei aus. Die Kristallisation wurde im Eisschrank bei —10° beendet. Nach 2maligem Umkristallisieren erhielten wir große gelbe Nadeln vom Schmp. 102°. Der Mischschmp. mit dem Kohlenwasserstoff aus IIa ergab keine Depression.

Gef. C 88,88 H 10,52.

3. Aus dem Glykol IIc, Schmp. 161°: In gleicher Weise, wie bei dem Glykol IIa durchgeführt. Gelbe Nadeln aus abs. Alkohol Schmp. 102°, Mischschmp. mit dem Kohlenwasserstoff aus IIb ohne Depression.

Gef. C 88,83 H 10,52.

Die Analysen der Kohlenwasserstoffe zeigen alle etwas zu niedrige C-Werte; wir führen dies auf die große Sauerstoffempfindlichkeit des Stoffes zurück.

Perhydrierung des Kohlenwasserstoffs $C_{30}H_{42}$. 100,6 mg Sbst. wurden mit 50 mg PtO_2 in 20 ccm Eisessig mit H_2 geschüttelt. Nach Aufnahme von 44,93 ccm H_2 (red.) blieb die Hydrierung stehen. Ber. für 8 Mol H_2 44,80.

Mit $SbCl_3$ zeigte der Kohlenwasserstoff eine blaugrüne Färbung. U.V.-Absorptionsmaximum 350 bis 370 mμ ($\varepsilon = 65000$[7]).

(Sämtliche Operationen wurden unter reinstem Stickstoff durchgeführt.)

Der Firma Hoffmann-La Roche, Basel, sind wir für die Überlassung von β-C_{14}-Aldehyd und β-Jonon zu Dank verpflichtet.

Synthetische Versuche in der Penicillin-Reihe (II)[1]

Versuche zum synthetischen Aufbau des Penicillin-Gerüstes

Von *Oskar Süs*

(Aus dem Hauptlaboratorium der Firma Kalle & Co. Akt.Ges.)

[Eingelaufen am 21. Mai 1948.]

Bei der milden Behandlung von Penicillin mit verd. Alkalien wird der β-Laktamring hydrolytisch aufgespalten unter Bildung einer Dicarbonsäure, der Penicilloinsäure[2]). Unter der Einwirkung heißer verd. Mineralsäuren erleidet das Penicillin eine Spaltung in d-Penicillamin (β,β-Dimethylcystein), über dessen Synthese wir berichten konnten[1]), und — im Falle des Penicillins II (G) — Phenylacetylaminoacetaldehyd[2]), ein Decarboxylierungsprodukt der primär entstandenen α-Formylphenacetursäure (Penaldinsäure).

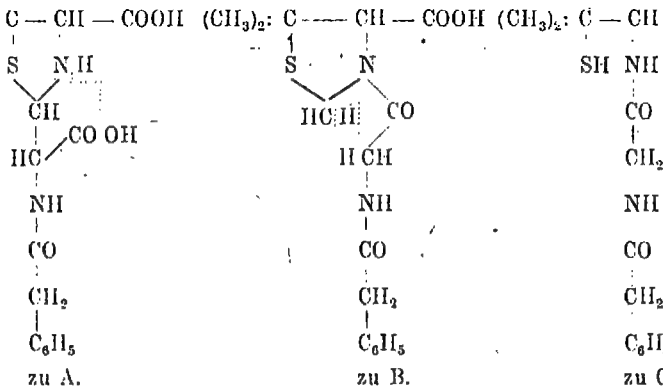
Ausgehend von dem dl-Penicillamin konnten für den synthetischen Aufbau des Gerüstes von Penicillin G (II) folgende Wege in Betracht gezogen werden:

A) Nach der durch M. P. Schubert[3]) bekannt gewordenen Synthese von Thiazolidinderivaten durch Kondensation von Aldehyden mit Cystein konnte versucht werden, die beim sauren Abbau des Penicillins erhaltenen Spaltprodukte, das Penicillamin und die α-Formylphenacetursäure (in Form beständiger Derivate) rückwärts wieder zu kondensieren

---

[1]) 1. Abh. A. **559**, 92 (1948).
[2]) Z. f. Naturforschung **1**, 171 (1946).
[3]) J. Biol. Chem. **114**, 341 (1936).

und an der entstandenen Penicilloinsäure in sekundärer Reaktion den β-Laktamringschluß vorzunehmen. (Siehe Formel!)



B) In die durch Kondensation von Penicillamin mit Formaldehyd gewonnene 5,5-Dimethyl-Thiazolidin-4-carbonsäure führt man den Phenaceturylrest ein und versucht an dem entstandenen Dipeptid den Vierringschluß durch Dehydrierung (s. Formel!).

C) Die Peptidgruppe wird von der α-ständigen Aminogruppe des Penicillamins her aufgebaut und in das N-Phenaceturyl-penicillamin (s. Formel!) das dem 5-Ring und dem 4-Ring gemeinsame Brückenkohlenstoffatom

a) über eine Formylgruppe an der SH-Gruppe oder dem Methylenkohlenstoffatom der Glycylgruppe,

b) durch Kondensation mit einem Methanderivat mit 3 beweglichen Atomgruppen

eingeführt.

In der Erwartung größerer Schwierigkeiten beim Aufbau des β-Laktamrings wurden Versuche zur Synthese des Penicillin-Gerüstes nach den 3 aufgezeigten Wegen gleichzeitig in Angriff genommen.

Zum Aufbau der Penicilloinsäure nach Methode A war die Darstellung des bis dahin in der Literatur noch nicht beschriebenen *α-Formyl-phenacetursäure-äthylesters* (I) oder eines anderen Carbonsäurederivats erforderlich. Die von Erlenmeyer[4]) zur Darstellung des α-Formylhippursäureesters durch Kondensation von Hippursäure-äthylester mit Ameisensäure-äthylester in Gegenwart von Natriumalkoholat gegebene Vorschrift führte bei ihrer Übertragung auf den Phenacetursäureester nicht zum Ziel[5]). Eine glatte Umsetzung des Phenacetursäure-äthyl-

[4]) A. 337, 251 (1904).

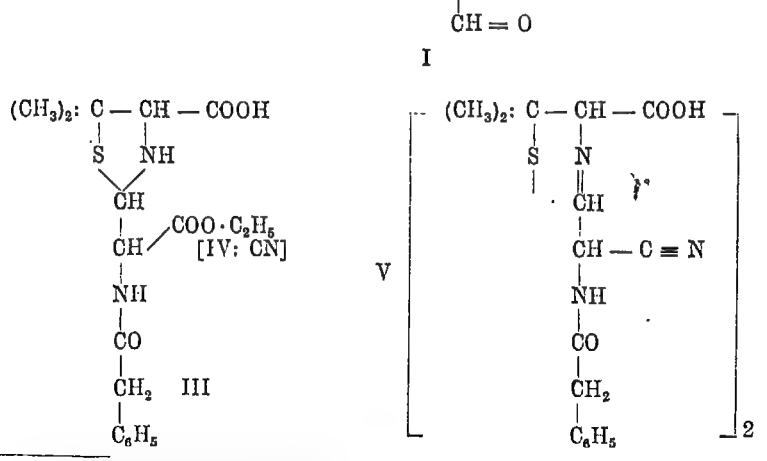
[5]) In der Vorschrift von Erlenmeyer werden für das Gelingen der Reaktion besondere Anforderungen hinsichtlich der zu verwendenden Chemikalien gestellt. Nach seinen eigenen Angaben gelang die Darstellung erst nach vielen ergebnislosen Versuchen.

esters mit Ameisensäure-äthylester erzielten wir unter völligem Ausschluß von Alkohol, beim Arbeiten im indifferenten Lösungsmittel, in Gegenwart von metallischem Natrium nach der von Moffat und Mitarbeiter[6]) für Esterkondensationen beschriebenen Methode[7]).

Der so erhältliche α-Formylphenacetursäureester (I) stellt als Rohprodukt ein gelblichbraun gefärbtes, zähes Öl dar. Er ist nicht unzersetzt destillierbar und verändert sich bei längerem Aufbewahren. Er gibt ein in schön braungelben Nadeln kristallisierendes Dinitrophenylhydrazon. Für die Kondensation mit Penicillamin wurde das jeweils frisch bereitete Rohprodukt verwendet.

In analoger Weise gelang die Darstellung des *α-Formylphenacetursäure-nitrils* (II), das durch sein in braunroten Nadeln kristallisierendes Dinitrophenylhydrazon charakterisiert werden konnte.

Die Umsetzung von I mit Penicillamin in alkoholischer Lösung und bei gew. Temperatur führte zu dem *Penicilloinsäure-monoäthylester* (III), wobei sich Piperidin als Kondensationsmittel bewährte. Der Ester fällt bei seiner Isolierung aus alkalischer Lösung durch schwaches Ansäuern zunächst als Syrup an und wird erst nach mehrmaligem Umfällen aus Bikarbonat-Lösung fest. Reinigungsversuche durch Kristallisation des Esters aus Lösungsmitteln blieben bis jetzt ohne Erfolg.



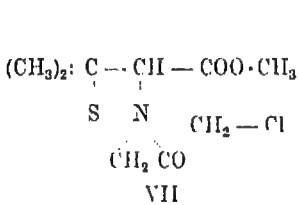
[6]) J. chem. Soc. 1946, 451—454.

[7]) Der sichere Beweis für den Eintritt der Formylgruppe in die α-Stellung wäre noch zu erbringen, doch ist wohl anzunehmen, daß die Methylengruppe des Phenylessigsäurerestes weniger reaktionsfähig ist. Bei einem Modellversuch mit Phenylacetamid gelang die Einführung einer Formylgruppe unter den obigen Versuchsbedingungen in das α-ständige Kohlenstoffatom nicht.

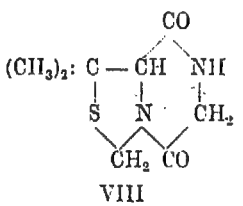
Analog gelang die Herstellung des Penicilloinsäurenitrils (IV), das für den Vierringschluß, bei Anwendung der für die Kondensation von Aminen mit Nitrilen zu Ketiminen bekannten Methoden, als besonders geeignet erscheint.

Die Kondensation von II mit dem Penicillamin-disulfid, durch milde Oxydation von Penicillamin leicht erhältlich, führte zu der Schiffschen Base (V). Ihre Darstellung erwies sich als notwendig als Vergleichsmaterial für ein in seinen Eigenschaften von dem Penicillinsäure-nitril abweichendes Kondensationsprodukt aus gealtertem, in das Penicillamin-disulfid übergegangenes Penicillamin.

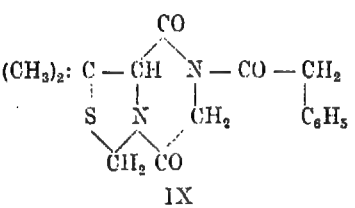
Für den Aufbau des Penicillingerüstes nach Methode B versuchten wir die Herstellung der 3-Phenacetyryl-5,5-dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure. Penicillamin kondensiert sich analog dem Cystein mit Formaldehyd, wobei die 5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure (VI) entsteht[8]). Die Einführung des Phenacetyryl-Restes versuchten wir, nachdem die Darstellung des Phenacetylchlorids nicht gelang, nach einer von E. Fischer[9]) gegebenen Methode zum Aufbau von Polypeptiden. Der durch Veresterung von VI dargestellte Methylester wurde als salzsaures Salz durch Erhitzen mit Chloracetylchlorid in Benzol in die Verbindung VII



VII



VIII



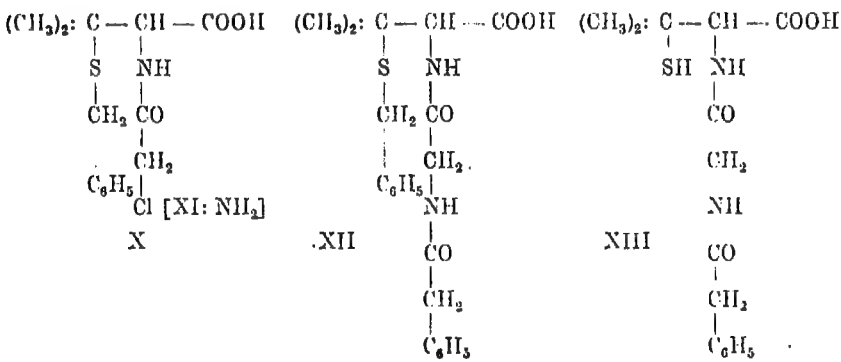
IX

übergeführt. Die bei der Umsetzung von VII mit wäßrigem Ammoniak in der Kälte erhältliche, gut kristallisierende Base (VIII) erwies sich als ein Diketopiperazinderivat. Sie konnte mit Phenacetylchlorid in Benzol in der Hitze zur Umsetzung gebracht werden[10]). Die Aufspaltung des

[8]) S. auch Neher, Wettstein u. Mitarb., Helv. XXIX. (1946).
[9]) B. 37, 2486 (1904).
[10]) Die Diketopiperazin-Bildung konnten auch Neher, Wettstein u. Mitarb. beobachten bei einem Versuch zur Umsetzung der 5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure mit Glycylchlorid. L. c. S. 1877.

Diketopiperazinringes in Verbindung IX zur 3-Phenacetyryl-5,5-dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure gelang wider Erwarten nicht. Beim kurzen Erwärmen mit 1 Mol alkoholischer Natronlauge wird der Phenacetylrest abgespalten und VIII zurückgebildet.

Die Darstellung des *dl-N-Phenacetyryl-penicillamins* (Methode C) mußte ebenfalls unter Umgehung des nicht zugänglichen Phenacetyrylchlorids in mehreren Stufen vorgenommen werden. S-Benzyl-penicillamin wurde mit Chloracetylchlorid in Verbindung X umgewandelt. Beim Erwärmen mit konz. Ammoniak wird das Chlor gegen die Aminogruppe ausgetauscht (XI).



Die Einführung des Phenacetylrestes in Verbindung XI gelingt gut, wobei das *S-Benzyl-N-phenacetyryl-penicillamin* (XII) entsteht. Die Abspaltung der Benzylgruppe wird analog der für die Überführung von Benzylpenicillamin in Penicillamin angegebenen Methode durch Reduktion mit metallischem Natrium in Gegenwart von flüssigem Ammoniak durchgeführt. Die Umsetzungen verlaufen durchweg sehr glatt.

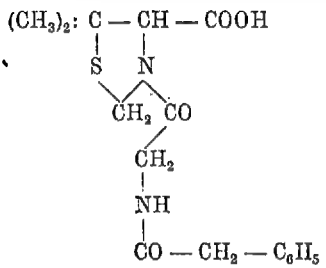
Das N-Phenacetyryl-penicillamin (XIII) steht erwartungsgemäß in seinen Eigenschaften dem N-Acetyl-penicillamin[11]) sehr nahe und zeigt wie dieses noch die Eisenchloridreaktion. Die Sulfhydrylgruppe gibt die Reaktionen aliphatisch gebundener SH-Gruppen. Beim Behandeln mit schwachen Oxydationsmitteln oder Luftsauerstoff bildet sich das Disulfid (XIV). Die SH-Gruppe läßt sich acylieren. Bei der Umsetzung von XIII mit Acetylchlorid in wäßrig, sodaalkalischer Lösung entsteht das S-Acetyl-N-phenacetyryl-penicillamin (XV).

Beim kurzen Aufkochen von XIII mit Essigsäureanhydrid läßt sich mit guter Ausbeute ein schön kristallisierender Körper (XVI) isolieren, der nicht mehr die SH-Reaktion gibt und nicht mehr alkalilöslich ist. Er enthält 1 Mol Wasser weniger als das Ausgangsprodukt. Die SH-Gruppe und die Carboxylgruppe dürften dabei unter Abspaltung von Wasser in Reaktion getreten sein unter Ausbildung eines Vierringes

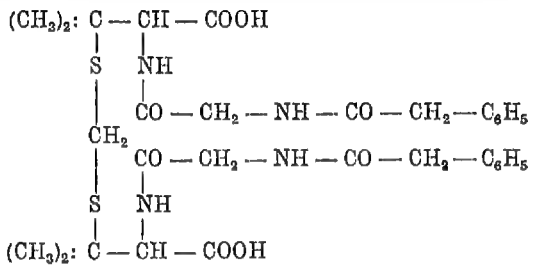
[11]) A. **559**, 101 (1948).

(β-Thiolaktonringes), doch steht der Konstitutionsbeweis noch aus[12]). Die Formylierung der SH-Gruppe durch Umsetzung von XIII mit Ameisensäure-Essigsäureanhydrid unter milden Bedingungen gelang uns bis jetzt noch nicht.

Bei der Umsetzung von XIII mit Paraformaldehyd in Gegenwart von Phosphorsäure entsteht in guter Ausbeute ein Kondensationsprodukt, für das die Formeln XVII und XVIII in Betracht zu ziehen sind



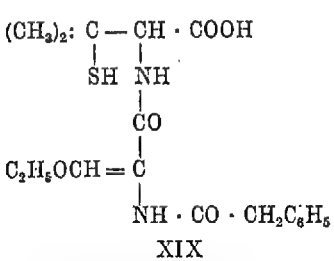
XVII



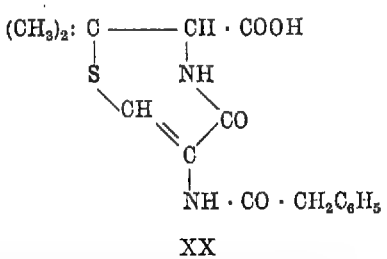
XVIII

Eine eindeutige Entscheidung konnten wir auf Grund der Analysenresultate nicht treffen. Die Molekulargewichtsbestimmung wird hierüber Auskunft geben.

Die Einführung des dem Vierring und Fünfring gemeinsamen Brückenkohlenstoffatoms versuchten wir nun auch durch Umsetzung von XIII mit Orthoameisensäureäthylester, einem Methanderivat mit 3 beweglichen Atomgruppen. In der Annahme, daß die Beweglichkeit der Wasserstoffatome an der Methylengruppe des Glycylrestes erhalten bleibt, versuchten wir, die Claisensche Reaktion[13]) auf XIII zu übertragen in der Erwartung, zu XIX zu gelangen. Ein solcher Körper mit verkappter Aldehydgruppe konnte für den Thiazolidinringschluß geeignet sein.



XIX



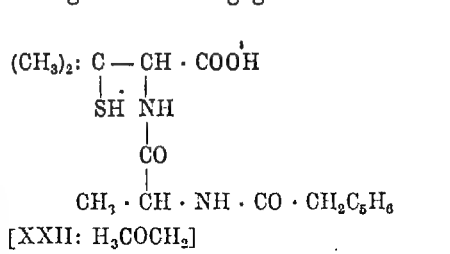
XX

[12]) Verbindungen, die in ihren Eigenschaften diesem Körper sehr ähnlich sind, erhielten wir bei der Umsetzung von Alkyliden-Azlaktonen, z. B. dem Azlakton aus Aceton und Hippursäure, sowie dem Azlakton aus Benzaldehyd und Glykokoll mit Thioessigsäure. Arbeiten zur Ermittlung der Konstitution dieser Körper sind im Gange.

[13]) B. 26, 2731 (1893); A. 297, 16—78 (1897).

Bei mäßiger Erwärmung von Phenaceturyl-penicillamin mit einem geringen Überschuß von Orthoameisensäureäthylester tritt unter Abspaltung von Alkohol Reaktion ein. Das gelb gefärbte Reaktionsprodukt ist wie die Ausgangsverbindung in Natriumbicarbonat löslich. Die Carboxylgruppe ist demnach intakt geblieben. Die SH-Reaktion ist negativ, der Orthoameisensäureester muß mit der SH-Gruppe in Reaktion getreten sein. Die Gelbfärbung weist auf das Vorhandensein von Doppelbindungen, wahrscheinlich in konjugierter Anordnung, hin. Beim Abbau mit verd. Salzsäure in der Wärme läßt sich Phenylessigsäure isolieren. Der Phenylessigsäurerest in seiner amidartigen Bindung mit dem Glycylrest ist demnach erhalten geblieben. In der, nach Abtrennung der Phenylessigsäure verbliebenen, sauren Flüssigkeit läßt sich das Penicillamin mit seiner kräftigen Eisenchloridreaktion nachweisen und mit Quecksilberchlorid die nach der Entphenacetylierung verbliebene Base abscheiden. Diese Base enthält noch das Grundgerüst des primären Kondensationsproduktes, denn sie ist wie letzteres gelb gefärbt. In Wasser ist die Verbindung XX in geringem Maße in der Kälte löslich, an Tierkohle wird sie aus der wäßrigen Lösung restlos absorbiert. Auch an Aluminiumoxyd wird sie rasch adsorbiert, so daß sich die chromatographische Methode für ihre Reinigung gut eignet. Auf Grund der Analysenergebnisse handelt es sich um eine mit dem Penicillin isomere Verbindung. Eine antibiotische Wirkung konnte nicht festgestellt werden. Die in XX wiedergegebene Konstitutionsformel erklärt den Reaktionsverlauf und die Eigenschaften dieser Verbindung am besten. Auch ihre Gelbfärbung vermag diese Formel, bei Annahme einer Isomerisation des Wasserstoffatoms an der Iminogruppe des Penicillamins, zu erklären. Der endgültige Konstitutionsbeweis steht noch aus. Die Möglichkeit einer Isomerisierung zum Penicillin soll in weiteren Versuchen geprüft werden.

Unter Verwendung der für die Darstellung von XIII angegebenen Methode haben wir Versuche zur Herstellung von Abkömmlingen des N-Phenaceturyl-penicillamins mit Alkyl und Oxyalkylgruppen in der Methylengruppe des Glycylrestes unternommen.



XXI

Bei der Verwendung von α-Brompropionsäurechlorid und β-Methoxybrompropionsäurechlorid anstelle von Chloracetylchlorid gelangten wir zu den Verbindungen XXI u. XXII.

Inwieweit es möglich sein wird, die Alkylsubstituenten der Methylengruppe für den Ringschluß zum Thiazolidin umzubauen, soll anhand weiterer Versuche geprüft werden.

Versuche

Verbesserung der Darstellungsmethoden für das dl-β.β-Dimethylcystein (Penicillamin)

a) Aus dem 2,5,5-Trimethylthiazolin-4-Carbonsäureäthylester[14])

Bei der Aufspaltung des Thiazolinringes läßt sich HBr durch HCl ersetzen.

25 g des Esters werden in 300 ccm Salzsäure (1,163 ~ 32proz.), aus der die Luft durch einen Stickstoffstrom verdrängt war, eingetragen und die Lösung wird etwa 12 Stunden unter Stickstoff zum Sieden erhitzt. Die salzsaure Lösung wird nach der Filtration mit Kohle i. V. bei 40° eingedampft. Es hinterbleibt ein heller Syrup von Penicillaminchlorhydrat. Durch Aufkochen mit der 2—3fachen Menge Azeton wird das Penicillamin in bekannter Weise in das schön kristallisierende Hydrochlorid der 2,2,5,5-Tetramethylthiazolidin-4-carbonsäure vom Fp. 191° übergeführt. Ausbeute 14 g.

b) Über die α-Acetamino-β,β-dimethylacrylsäure[15])

Anstelle der umständlichen Reduktion des α-Nitro-β,β-dimethylacrylsäureäthylesters mit Aluminiumamalgam in Äther konnte die Zinkstaub-Eisessigreduktion in Anwendung gebracht werden. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Essigsäureanhydrid wird der während der Reduktion gebildete, wenig beständige Aminoester azetyliert. Der nach Verdampfen der Reduktionsflüssigkeit hinterbliebene α-Acetamino-β,β-dimethylacrylsäureäthylester konnte als Rohprodukt durch Verseifen mit verd. Natronlauge zur Säure verarbeitet werden.

100 g Nitroester werden in einem Gemisch von 400 ccm Essigsäureanhydrid und 300 ccm Eisessig gelöst und die Lösung durch Erhitzen im Wasserbad unter Rühren im Dreihalskolben auf etwa 85° gebracht. Beim langsamen Eintragen von Zinkstaub steigt die Temperatur bis gegen 102°. Die weitere Zugabe des Zinkstaubes erfolgt so, daß die Reaktionstemperatur zwischen 100 und 105° verbleibt. Die Wasserbadtemperatur soll gegen Ende der Reaktion 90—95° betragen. Für das Eintragen des Zinkstaubes werden etwa 2 Stunden benötigt. Nach dreistündigem Weitererhitzen ist die Reduktion beendet. Aus einer Probe der Lösung darf sich bei Zugabe von etwa der fünffachen Menge Wasser kein Nitroester am Boden des Gefäßes mehr absetzen. Die von dem Zinkstaub abgesaugte Reduktionsflüssigkeit wird i. V. bei 40—70° stark eingeengt. Als Rückstand verbleibt ein gelbbraunes, dickes Öl von α-Acetamino-β,β-dimethylacrylsäureäthylester, vermischt mit Zinksalzen.

Verseifung des Rohesters. Der Rückstand wird mit 300 ccm 20proz. Natronlauge versetzt und die Flüssigkeit gut durchgeschüttelt. Es tritt Selbsterwärmung ein; die Temperatur steigt bis gegen 70° an; dabei tritt ein stark basischer ammoniakähnlicher Geruch auf. Nach etwa zweistündigem Erwärmen am gut siedenden Wasserbad ist die Verseifung beendet, die anfänglich an der Flüssigkeitsoberfläche vorhandene, ölige Schicht ist verschwunden. Nach starkem Abkühlen wird die alkalische Flüssigkeit schwach kongosauer gestellt. Nach einigem Reiben fällt die Säure in Form eines gelblichweißen, kristallinen Niederschlags aus. Das scharf abgesaugte und unter der Presse von der sauren Flüssigkeit befreite Rohprodukt zeigt nach dem Trocknen einen Schmp. von 190—193° und ist für die Umsetzung mit Benzylmerkaptan genügend rein. Eine Probe aus Wasser umkristallisiert schmilzt scharf bei 203°. Ausbeute 25—30 g.

α-Formylphenacetursäure-äthylester (I)

In die Suspension von 3,75 g Natriumstaub in 75 ccm wasserfreiem Benzol werden unter Rühren und Ausschluß von Feuchtigkeit 10 g frisch destillierter Ameisensäureäthylester innerhalb von 5 Minuten gegeben. Nach ¼ Stunde Rühren trägt

[14]) A. **559**, 97 (1948).
[15]) A. **559**, 98 (1948).

man bei etwa 0° das Gemisch von 28,75 g Phenacetursäure-äthylester in 75 ccm Benzol innerhalb von 15 Minuten portionsweise ein. Die anfänglich weiße, milchige Suspension nimmt langsam Gelbfärbung an, die sich nach gelbbraun vertieft. Nach einer Rührzeit von 10 Stunden bei 0° läßt man die Temperatur für 4 Stunden auf + 10° ansteigen. Anschließend bleibt der gut verschlossene Kolben 40 Stunden an einem kühlen Ort stehen.

Zu der Reaktionsmasse werden 50 ccm eiskaltes Wasser gegeben und die alkalisch-wäßrige Schicht von der Benzolschicht abgetrennt. Die wäßrige Schicht wird nochmals mit Äther durchgeschüttelt und unter starker Kühlung durch Zugabe von konz. Salzsäure angesäuert ($p_H \sim 4$). Der Formylester fällt in Form eines Öles aus und wird sofort in Äther aufgenommen. Nach nochmaligem Ausäthern der angesäuerten Flüssigkeit werden die vereinigten Ätherlösungen mit Natriumsulfat getrocknet und der Äther i. V. abgezogen. Zur Entfernung von nicht umgesetztem Ameisensäureester ist kurzes Absaugen an der Hochvakuumpumpe bei 30—35° erforderlich. Der erhaltene Rohester stellt ein dickflüssiges, gelbbraunes Öl dar. Mit Eisenchlorid in alkoholischer Lösung gibt er eine Blauviolettfärbung. Ausbeute 16 g.

Dinitrophenylhydrazon. 0,75 g der Verbindung werden in 3 ccm Alkohol gelöst und die Lösung mit einer Auflösung von 0,5 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 30 ccm Alkohol und 2 ccm 32proz. Salzsäure versetzt. Das Dinitrophenylhydrazon kristallisiert nach kurzem Stehen in Form von gelbbraunen Nadeln aus. Schmp. 188° u. Zers.

$C_{19}H_{19}O_7N_5$ (429) Ber. N 16,30
Gef. „ 16,18.

α-Formylphenacetursäurenitril (II)

Zu einer Suspension von 9 g Natriumstaub in 150 ccm wasserfreiem Benzol werden bei 0° unter Ausschluß von Feuchtigkeit langsam innerhalb von etwa 15 Minuten unter Rühren 28,8 g Ameisensäureäthylester gegeben. Dabei ist mäßiges Schäumen zu beobachten. Nach 1½stündigem Rühren bei 0° trägt man innerhalb von 30 Minuten 32,4 g Phenacetursäurenitril portionsweise ein. Nach ½stündigem Weiterrühren bei 0°, dann 1 Stunde bei Zimmertemperatur und zum Schluß 1Stunde bei etwa 40° (Wasserbadtemperatur) färbt sich das Reaktionsgemisch zunehmend gelb. Ohne weiter zu erhitzen, setzt man das Rühren noch etwa 3 Stunden fort und läßt über Nacht stehen. Unmittelbar nach dem Eintragen des Nitrils bildet sich ein dicker Klumpen in der Flüssigkeit, der allmählich in Lösung geht.

Die stark gelb gefärbte, trübe Lösung wird in das gleiche Volumen Eiswasser gegossen und nach Zugabe von destilliertem Äther die wäßrig-alkalische Schicht abgetrennt. Die Äther-Benzollösung enthält nicht umgesetztes Phenacetursäurenitril, das wiedergewonnen werden kann. Aus der wäßrig alkalischen Flüssigkeit wird die Formylverbindung unter starker Kühlung durch Zugabe von 32proz. Salzsäure bis zur schwach sauren Reaktion ($p_H \sim 6$ bis 5) als dunkelbraunes Öl zur Abscheidung gebracht. Das Öl wird sofort in Äther aufgenommen und die ätherische Lösung nach dem Trocknen mit Glaubersalz i. V. verdampft. Kurzes Erwärmen am Hochvakuum bei etwa 30° ist zur Entfernung von Resten von Ameisensäureester erforderlich. Das Reaktionsprodukt stellt ein braunes, zähflüssiges Öl dar. Mit Eisenchlorid in alkoholischer Lösung gibt es eine blauviolette Färbung. Ausbeute 8,5 g, entsprechend etwa 23 % d. Th. Es verändert sich nach mehrtägigem Stehen, wobei die Eisenchloridreaktion zurückgeht.

2,4-Dinitrophenylhydrazon. 1,7 g Substanz werden in etwa 4 ccm Alkohol gelöst. Hierzu wird die noch heiße Lösung von 1,7 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in etwa 50 ccm 90proz. Alkohol und 5 ccm 32proz. Salzsäure gegeben. Die Lösung färbt sich dunkler und nach dem Erkalten scheidet sich beim Reiben der Gefäßwand das Hydrazon als braunroter, kristalliner Niederschlag ab. Nach dem Stehen über Nacht vervollständigt sich die Abscheidung. Aus wenig Pyridin umkristallisiert, schmilzt das

Hydrazon bei 174°. Für die Analyse wurde das Präparat i. V. bei 70° unter ständigem Absaugen des schwer zu entfernenden Pyridins getrocknet.

$C_{17}H_{14}O_6N_6$ (382) Ber. N 22,0
Gef. „ 22,29.

dl-Penicilloinsäuremonoäthylester (III)

15 g α-Formylphenacetursäureäthylester (frisch bereitet) werden in 10 ccm Alkohol gelöst und mit einer Auflösung von 9,25 g Penicillaminhydrochlorid in 50 ccm Alkohol versetzt; durch einen langsamen Stickstoffstrom wird die Luft verdrängt und dann 6 ccm Piperidin zugegeben. Nach etwa 48stündigem Stehen sind SH-Reaktion und Eisenchloridreaktion nur mehr schwach positiv, die Umsetzung kann als beendet angesehen werden.

Der Alkohol wird nun i. V. bei etwa 50° verdampft. Der klebrige, braungelbe Rückstand wird mit 40 ccm einer 10proz. Natriumbicarbonatlösung digeriert und die Lösung mit Äther durchgeschüttelt. Aus der abgetrennten, wäßrig-alkalischen Flüssigkeit scheidet sich der Penicilloinsäuremonoäthylester beim Ansäuern unter starker Kühlung in Form eines schwach gelblichgrün gefärbten, zähen Syrups ab, der sofort in Äther aufgenommen wird. Beim Ausziehen des Äthers mit 10proz. Natriumbicarbonatlösung und erneuter Fällung durch schwaches Ansäuern gewinnt man den Ester in Form eines bei sehr starker Kühlung glasig harten, fast farblosen Harzes, das nach dem Trocknen pulverisiert werden kann. Ausbeute 6—8 g. Der Schmp. liegt unscharf zwischen 60 und 68°. Bei 100° tritt Zersetzung ein. Bei Reinigungsversuchen durch Umkristallisation aus org. Lösungsmitteln hatten wir keinen Erfolg. In fast allen org. Lösungsmitteln, außer Petroläther, ist er leicht löslich.

$C_{18}H_{24}O_5N_2S$ Ber. N 7,36 S 8,42
Gef. „ 6,95; 6,86 „ 7,23.

dl-Penicilloinsäurenitril (IV)

5,9 g frisch dargestelltes α-Formylphenacetursäurenitril (ca. 1/40 Mol, angenommen mit einer Reinheit von 80%) werden in 8 ccm Alkohol gelöst und mit einer alkoholischen Lösung von 4,6 g (1/40 Mol) frisch dargestelltem Penicillaminchlorhydrat versetzt. Durch die Lösung wird Stickstoff geleitet und dann werden 3 ccm Piperidin zugegeben. Die Lösung erwärmt sich schwach, wobei sich etwas Piperidinhydrochlorid abscheidet. Nach dreitägigem Stehen war die Eisenchloridreaktion und die SH-Reaktion nur mehr schwach.

Der Alkohol wird i. V. bei 30—35° abgedampft. Es hinterbleibt ein dunkelbrauner, zähflüssiger Rückstand, der mit 40 ccm einer 10-proz. Natriumbikarbonatlösung digeriert wird. Die nicht klare Bikarbonatlösung wird mit Äther durchgeschüttelt und geklärt. Unter starker Kühlung wird die Lösung durch Zugabe von etwa 18-proz. Salzsäure auf $p_H \sim 5$ gebracht. Das Kondensationsprodukt scheidet sich in Form eines grauen Niederschlages ab, von dem sofort abgesaugt wird. Ausbeute 2,2 g. Versuche, das Rohprodukt durch Kristallisation aus Lösungsmitteln zu reinigen, schlugen fehl. Durch Aufnehmen in Natriumbikarbonatlösung und Wiederfällen mit verd. Salzsäure läßt sich das Penicilloinsäurenitril in Form eines grauweißen Pulvers isolieren. Schmp. 115—118° u. Z., bei 82° beg. Sinterung.

Es ist in etwa 30-proz. Salzsäure löslich. Bei einstündigem Erwärmen mit Salzsäure bei Wasserbadtemp. gibt eine neutralisierte Probe positive Eisenchloridreaktion, eine alkalisch gestellte Probe mit Nitroprussidnatrium positive SH-Reaktion.

Die für die Analysen bestimmten Proben wurden jeweils bei 45° über Ätznatron getrocknet. Die Substanz enthält noch schwer zu entfernendes Wasser, das etwa einem Kristallwassergehalt von 3 Mol entsprechen würde.

$C_{16}H_{19}O_3N_3S \cdot 3H_2O$ (387) Ber. N 8,26 S 10,85
Gef. „ 8,32 „ 10,64.

ββ-β',β'-Tetramethylcystin (Penicillamindisulfid)

2 g Penicillaminhydrochlorid werden in 20 ccm Wasser gelöst und 25 ccm 8-proz. Natronlauge zugegeben. Die Flüssigkeit muß phenolphtaleinalkalisch reagieren. Nach Zusatz von wenigen Tropfen Eisenchloridlösung (Violettblaufärbung!) wurde so lange Luft durch die Lösung geleitet, bis keine SH-Reaktion mehr auftritt, wozu etwa 12 Std. erforderlich sind. Die Lösung wird mit verd. Salzsäure neutral gestellt und dann i. V. bei 40° zur Trockne verdampft. Aus wenig heißem Wasser umkristallisiert schmilzt das Disulfid bei 218° u. Z.

Kondensation des *ββ-β',β'*-Tetramethylcystins mit *α*-Formylphenacetursäurenitril (V)

0,5 g Penicillamindisulfid werden in 10 ccm Alkohol, dem einige Tropfen Wasser zugesetzt waren, gelöst. Sodann werden 0,3 g Piperidin zugegeben und zur besseren Durchmischung ein schwacher Stickstoffstrom durch die Lösung geleitet. Nach etwa 20-stündigem Stehen waren die Eisenchloridreaktion und die SH-Reaktion vollkommen negativ.

Nach dem Verdampfen des Alkohols i. V. bei 30—35° wird der zähe Rückstand mit einer 10-proz. Natriumbikarbonatlösung digeriert und die tiefgelbe Lösung durch Ausschütteln mit Äther geklärt. Beim Ansäuern mit Salzs. bis zur schwach sauren Reaktion fällt das Kondensationsprodukt in Form eines stark gelbgefärbten Niederschlages aus. Das abgesaugte Produkt wird mehrmals mit Wasser gewaschen und nochmals umgefällt. Ausbeute 0,3 g. Schmp. unscharf bei 149—152° (Zers.), bei 82° beg. Sinterung. Für die Analyse wurde i. V. über Ätznatron bei 55° getrocknet.

$C_{32}H_{36}N_6O_6S_2$ (664) Ber. N 12,66 S 9,67
Gef. „ 12,48 „ 10,07.

5,5-Dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäure[3])[8])

5 g Penicillaminchlorhydrat werden in 5 ccm Wasser gelöst und zu der Lösung 3,5 ccm einer 3-proz. Formaldehydlösung gegeben. Schwache Erwärmung. Nach längerem Stehen fällt die 5,5-Dimethylthiazolidincarbonsäure in Form einer dicken, weißen Kristallmasse aus. Durch Zugabe von 2,2 ccm Pyridin und innigem Durchmischen erhält man die freie Base. Nach dem Umkristallisieren aus wenig heißem Wasser schmilzt sie bei 211°.

$C_6H_{11}O_2NS$ (161) Ber. N 8,69 Gef. N 8,74.

Methylester (Hydrochlorid). 3,8 g der Säure werden in 150 ccm abs. Methylalkohol suspendiert und unter Kühlung im Kältegemisch mit trockenem HCl gesättigt. Anschließend wird die klare Lösung 2 Std. zum leichten Sieden erhitzt. Das Methanol wird i. V. bei 40° verdampft u. der Rückstand durch Lösen in wenig Methanol und Fällen mit Äther umkristallisiert. Ausbeute 4 g. Schmp. 165° u. Z.

3-Chloracetyl-5,5 dimethyl-thiazolidin-4-carbonsäuremethylester (VII)

3,3 g Thiazolidincarbonsäuremethylesterchlorhydrat werden in 55 ccm trockenem Benzol suspendiert und 4,4 g Chloracetylchlorid zugegeben. Das Gemisch wird nun 6 Std. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Unter HCl-Entwicklung tritt vollkommene Lösung ein, wobei sich die Lösung dunkler färbt. Die über Kohle filtrierte Lösung wird i. V. bei 30—40° eingedampft. Das zurückgebliebene Öl erstarrt bei Zugabe von Wasser kristallin. Aus Methylalkohol-Wasser umkristallisiert, Schmp. 83° (bei 80° Sintern).

$C_9H_{14}O_3NSCl$ (257,5) Ber. N 5,88 S 13,47
Gef. „ 5,61 „ 12,92.

Diketopiperazin (VIII)

3,2 g von VII werden mit 64 ccm 24proz. Ammoniak 3 Stunden auf der Maschine geschüttelt. Dabei entsteht eine klare Lösung. Beim Reiben kristallisiert das Diketopiperazinderivat in langen, weißen Nadeln aus. Die Mutterlaugen werden am Dampfbad eingeengt, wobei eine zweite Kristallisation erhältlich ist. Beide Anteile werden aus Wasser umkristallisiert. Prismatische Nadeln, die teilweise zu sternförmigen Gebilden vereinigt sind. Schmp. 167°. Der Körper ist in verd. Säuren in der Kälte leicht löslich.

$C_8H_{12}O_2N_2S$ (201) Ber. N 13,93
Gef. „ 13,93.

Phenacetylverbindung (IX)

0,6 g von VIII werden mit 10 ccm trockenem Benzol versetzt und das Gemisch nach Zugabe von 1,2 g Phenacetylchlorid 7 Stunden unter Rückflußkühlung gekocht. Nach dem Verdampfen des Benzols hinterbleibt ein öliger Rückstand, der bei Zugabe von Wasser kristallin erstarrt. Nach dem Umkristallisieren aus viel heißem Methanol schmilzt der Körper bei 143°.

$C_{16}H_{18}O_3N_2S$ (318) Ber. N 8,80
Gef. „ 8,46.

Verseifung. 0,64 g von IX (2/1000 Mol) wurden in 15 ccm Alkohol gelöst und 2 ccm (2/1000 Mol) n-NaOH zugegeben. Nach etwa 1½ Stunden Erwärmen im Wasserbad und Filtration mit Kohle wurde der Alkohol verdampft. Es hinterblieb ein etwas schmieriger Rückstand, der beim Verreiben mit Äther kristallin erstarrte. Aus viel Äther umkristallisiert, erwies sich das Verseifungsprodukt vom Schmp. 167° als identisch mit Körper VIII. Die abgespaltene Phenylessigsäure konnte wegen der zu geringen Menge nicht isoliert werden.

N-Chloracetyl-S-benzyl-(d,l)-penicillamin (X)

In einem 3 l Dreihalskolben werden unter gutem Rühren und Eiskühlung zu einer Auflösung von 54 g S-Benzylpenicillamin in 200 ccm 8proz. NaOH und 1250 ccm Wasser 38 ccm Chloracetylchlorid tropfenweise zugegeben. Durch gleichzeitige Zugabe von einer weiteren Menge 8proz. NaOH ist Sorge zu tragen, daß die Reaktion stets alkalisch bleibt. Die Temperatur der Lösung wird auf 0° gehalten. Das Chloracetylchlorid wird innerhalb einer Stunde zugegeben. Nach Filtration wird Verb. X durch Zugabe von Salzsäure abgeschieden. Sie fällt zunächst klebrig an und erstarrt nach kurzem Stehen zu einer kristallinen Masse. Nach der Filtration wird die überschüssige Säure durch Waschen mit Wasser entfernt. Ausbeute 54 g. Eine aus Eisessig-Wasser umkristallisierte Probe schmilzt bei 134°.

$C_{14}H_{18}O_3NSCl$ (315,5) Ber. N 4,44 S 10,14
Gef. „ 4,38 „ 10,19.

N-Aminoacetyl-S-benzyl-(d,l)-penicillamin (XI)

54 g von X werden in einer Druckflasche mit 1000 ccm 24proz. Ammoniak 3½ Stunden bei 100° erhitzt. Die klare, gelbbraune Lösung wird am Dampfbad stark eingedampft. Das Ammoniumsalz von XI kristallisiert aus. Es ist in Wasser schwer löslich. Eine Umkristallisation ist für die weitere Umsetzung nicht erforderlich. In verd. Säuren ist es leicht löslich. Ausbeute 42,5 g. Schmp. 218° u. Zers.

N-Phenaceturyl-S-benzyl-(d,l)-penicillamin (XII)

42,1 g von XI werden in einem Dreihalskolben in 130 ccm 8proz. NaOH und 250 ccm Wasser gelöst. Zu der nicht ganz klaren, auf — 2° abgekühlten Lösung

werden innerhalb von 20 Minuten 42,1 g Phenacetylchlorid gegeben. Gleichzeitig werden zur Aufrechterhaltung der alkalischen Reaktion 110 ccm 8proz. NaOH zugegeben. Die Temperatur der Lösung soll + 5° nicht übersteigen. Nach Zugabe von 500 ccm Wasser wird die milchige Suspension klar und nach etwa ½stündigem Nachrühren wird die Lösung unter Kühlung mit Salzsäure angesäuert. Das Reaktionsprodukt fällt als zähe, klebrige Masse aus, die bei etwa 5° durch Digerieren mit Wasser von überschüssiger Säure befreit werden kann. Bei starkem Abkühlen wird die Masse glashart und kann ohne Schwierigkeiten von den Gefäßwänden entfernt werden. Die freie Säure kristallisiert nicht.

Ammoniumsalz. Das erhaltene Produkt wird mit 50 ccm konz. Ammoniak gut verrieben. Nach vorübergehender Lösung erstarrt die Lösung zu einem dicken, rein weißen Kristallbrei des Ammoniumsalzes. Nach Zugabe und Verreiben mit etwa 200 ccm Aceton läßt sich das Salz besser filtrieren. Es wird vorsichtig am Dampfbad getrocknet. Ausbeute 49,9 g. Eine Probe aus heißem Wasser umkristallisiert schmilzt bei 185° u. Zers.

$C_{22}H_{29}O_4N_3S$ (431) Ber. N 9,74 S 7,42
Gef. „ 9,56 „ 7,55.

Methylester. In einem 5 l-Scheidetrichter werden 30 g des Ammoniumsalzes in 300 ccm Wasser suspendiert. Nach Zugabe von 2 l Äther werden 100 ccm 32proz. Salzsäure allmählich zugegeben. Die ausfallende freie Säure löst sich bei kräftigem und längerem Durchschütteln in dem vorgelegten Äther auf. Zu der Lösung wird eine Ätherlösung von Diazomethan aus 18 g Nitrosomethylharnstoff gegeben. Die Ätherlösung wird mit verd. Essigsäure und dann mit Natriumbicarbonatlösung durchgewaschen. Nach dem Trocknen mit Glaubersalz wird der Äther verdampft und der zu einer kristallinen Masse erstarrte Rückstand aus Alkohol-Wasser umkristallisiert. Ausbeute 25 g, Schmp. 104°.

N-Phenaceturyl-penicillamin (XIII)

Unter Kühlung mit Aceton-Kohlensäureschnee werden 48 g Ammoniumsalz von XII in 1 l flüssigem Ammoniak gelöst und innerhalb von 10—15 Minuten etwa 7 g metallisches Natrium in kleinen Stückchen allmählich eingetragen. Sobald die Blaufärbung der ammoniakalischen Lösung für etwa 20 Minuten bestehen bleibt, ist die Reduktion beendet. Durch Zugabe von wenig Ammoniumchlorid wird die Lösung entfärbt. Unter vorsichtigem Erwärmen bei 30° wird das Ammoniak durch einen Stickstoffstrom verdampft, der etwas klebrige hellbraune Rückstand in etwa 250 ccm Wasser aufgenommen und die wäßrige Lösung mit Äther ausgeschüttelt. Nach der Filtration mit Kohle wird sie unter starker Eiskühlung mit konz. Salzsäure angesäuert. Das zunächst syrupös ausfallende, zähe Produkt wird bei längerem Reiben und Stehen kristallin. Die überschüssige Säure wird durch Verreiben mit Wasser entfernt. Ausbeute 22,7 g.

Das Rohprodukt wird durch Umkristallisation aus etwa 70 ccm Methylalkohol und Fällen mit etwa 100 ccm Wasser gereinigt. Schmp. 145°.

$C_{15}H_{20}O_4N_2S$ (324) Ber. N 8,66 S 9.87
Gef. „ 8,78 „ 10,28.

Disulfid-Verbindung (XIV)

1 g von XIII wird in 2 ccm 8proz. NaOH und etwas Wasser gelöst. Bei phenolphtalein-alkalischer Reaktion wird nach Zugabe von einigen Tropfen Eisenchloridlösung (Blaufärbung!) durch die Lösung ein Luftstrom bis zum Verschwinden der SH-Reaktion mit Nitroprussidnatrium geleitet, was nach etwa 24 Stunden der Fall ist. Von dem ausgefallenen Eisenoxydschlamm wird abgesaugt und das Disulfid durch Ansäuern der Lösung mit verd. Salzsäure abgeschieden. Das Disulfid fällt als weißer, käsiger Niederschlag, der beim Filtrieren dazu neigt, sich gummiartig

zusammenzuballen. Nach Filtration der eiskalten Suspension und Waschen mit eiskaltem Wasser wurde das Produkt im Exsiccator getrocknet. Das glasharte Produkt läßt sich dann gut pulverisieren.

Für die Analyse wurde eine Probe nochmals umgefällt. Das Disulfid schmilzt unscharf. Bei 80° beginnende Sinterung, bei 128° Zersetzung. Eine Probe mit Zinkstaub in Gegenwart von 50proz. Essigsäure in der Wärme reduziert, gibt positive SH-Reaktion und Eisenchloridreaktion.

$C_{30}H_{38}O_8N_4S_2$ (646) Ber. N 8,66 S 9,97
Gef. „ 8,57 „ 10,30.

Umsetzung von N-Phenaceturyl-penicillamin mit Formaldehyd (XVII, XVIII)

3,2 g von XIII (1/100 Mol) werden mit 1 g (3/100 Mol) Paraformaldehyd vermischt und unter starker Eiskühlung mit 1 ccm Phosphorsäure (rein) verrieben. Nach dem Stehen über Nacht unter sauerstofffreiem Stickstoff hat sich eine trübe, doch homogene, viskose Lösung gebildet. Die SH-Reaktion und Eisenchloridreaktion sind negativ. Beim Verdünnen der Lösung mit Eiswasser fällt das Reaktionsprodukt aus. In 10proz. Sodalösung aufgenommen und mit Salzsäure unter starker Kühlung versetzt, fällt das Kondensationsprodukt als weißer, käsiger Niederschlag, der am Filter gummiartige Beschaffenheit annimmt und im Exsiccator über $CaCl_2$ getrocknet werden muß.

Der Schmp. des Produktes bleibt auch nach mehrmaligem Umfällen unscharf. Bei 118—120° tritt nach vorheriger Sinterung Zersetzung ein. Bei der Reduktion einer Probe mit Zinkstaub in Gegenwart von 50proz. Essigsäure unter Erwärmen konnte in der Reduktionsflüssigkeit weder SH-Reaktion noch Eisenchloridreaktion festgestellt werden.

XVII: $C_{16}H_{20}O_4NS$ (336) Ber. N 8,33 S 9,52

XVIII: $C_{31}H_{38}O_8N_2S_2$ (660) Ber. N 8,44 „ 9,69.
Gef. „ 8,10 S 9,98.

S-Acetyl-N-phenaceturyl-penicillamin (XV)

0,8 g von XIII werden in 7 ccm 10proz. Sodalösung aufgenommen und unter guter Kühlung 2,4 g Acetylchlorid und gleichzeitig, so daß die Lösung alkalisch bleibt, 30 ccm Sodalösung zugetropft. Nach etwa einstündigem Nachrühren ist die SH-Reaktion nur mehr schwach. Das Acetylierungsprodukt wird durch Zugabe von Salzsäure unter guter Kühlung ausgefällt. Der weiße, voluminöse Niederschlag wird in 10proz. Natriumbicarbonatlösung aufgenommen und mit Salzsäure wieder gefällt. Das im Exsiccator getrocknete Azetylierungsprodukt schmilzt unscharf bei 136° u. Zers.[16]).

$C_{17}H_{22}O_5N_2S$ (366) Ber. N 7,65
Gef. „ 8,13.

Umsetzungen von N-Phenaceturylpenicillamin mit Essigsäureanhydrid zu XVI

1 g von XIII wird in 4 ccm Essigsäureanhydrid suspendiert und das Gemisch kurz während ½ Minute zum Sieden erhitzt. Dabei tritt geringer Geruch nach Schwefelwasserstoff auf. Die schwach gelb gefärbte Lösung wird in etwa das dreifache Volumen Wasser gegossen. Nach kurzem Stehen und Reiben kristallisiert das

[16]) Bei kurzem Erwärmen am Wasserbad mit 8proz. NaOH wird die Acetylgruppe abgespalten und Körper XIII zurückgebildet.

Umsetzungsprodukt aus. Aus Alkohol umkristallisiert erscheint es in langen Nadeln vom Schmp. 143°.

$C_{15}H_{17}O_3N_2S$ (306) Ber. N 9,14 S 10,45
Gef. „ 9,21; 9,46 „ 11,35.

Kondensation von d,l-N-Phenaceturylpenicillamin mit Orthoameisensäure-triäthylester XX

Das breiige Gemisch von 5 g d,l-N-Phenaceturylpenicillamin mit 4 g Orthoameisensäure-triäthylester wird unter Rühren und stetem Durchleiten von O_2-freiem Stickstoff im Ölbad auf 85—90° erwärmt. Nach etwa 30 Minuten ist langsam zunehmende Gelbfärbung des Gemisches zu beobachten. Nach etwa 45 Minuten wird das Ganze dünnflüssiger und hellbraun, nach 1 Stunde liegt eine klare, etwas viskose, braungefärbte Lösung vor. Es wird noch 15 Minuten bei abfallender Temperatur gerührt.

Das Reaktionsprodukt wird mit 30 ccm 10proz. Natriumbicarbonatlösung versetzt, worin es leicht (unter anfänglicher stärkerer CO_2-Entwicklung, da starke Säure) löslich ist. Die bicarbonatische Lösung wird ausgeäthert, mit Aktivkohle versetzt, filtriert und dann unter starker Kühlung mittels Kältegemisch mit etwa 16proz. Salzsäure auf p_H 5—6 angesäuert. Dabei fällt das Reaktionsprodukt zunächst als zitronengelb gefärbtes Harz aus. Nach Dekantieren der Flüssigkeit wird mit Wasser gewaschen. Nach zweimaligem Umlösen aus 10proz. Bicarbonatlösung und Ansäuern mit 16proz. HCl unter gutem Kühlen und jeweiliger Behandlung mit Aktivkohle fällt das Reaktionsprodukt als zitronengelb gefärbte, kristalline Substanz aus. Ausbeute 2,0 g.

Es schmilzt unscharf bei 118° und zersetzt sich bei 130—132°. Sintern ab 74°.

$C_{16}H_{18}O_4N_2S$ (334) Ber. N 8,40 S 9,58
Gef. „ 8,48; 8,37 „ 10,29; 9,91.

Abbau von XX mit Salzsäure

1 g von XXI wurde mit 5 ccm etwa 30proz. Salzsäure im Wasserbad bei 80° 4 Stunden lang erwärmt. Das anfänglich ungelöste Produkt ging nach viertelstündigem Erwärmen in Lösung. Nach einiger Zeit trat Trübung ein. Beim Erkalten erschien die Phenylessigsäure in großen durchsichtigen Platten. Nach dem Absaugen und Umkristallisieren aus Wasser schmolz sie bei 75° (Misch-Schmp.).

Das Filtrat wurde i. V. bei 40° eingeengt. Dabei kristallisiert eine weitere Menge Phenylessigsäure aus, die durch Ausäthern gewonnen werden konnte. Die völlig eingedampfte Flüssigkeit hinterließ ein braunes, viskoses Öl. Eine Probe des Rückstandes in Wasser gelöst gibt eine stark positive SH-Reaktion und Eisenchloridreaktion (Penicillamin!). Es wurde in Methylalkohol aufgenommen und mit einer methylalkoholischen Quecksilberacetatlösung versetzt. Dabei fiel ein gelblich gefärbter, käsiger Niederschlag aus. Er wurde in Methylalkohol suspendiert und durch Einleiten von H_2S das Quecksilber als Sulfid abgeschieden. Das Filtrat war schwach gelb gefärbt. Beim Einengen hinterblieb ein dickflüssiges, gelb gefärbtes, viskoses Öl, das in wenig H_2O aufgenommen wurde. Es hinterblieben geringe Mengen eines kristallinen, schwach gelb gefärbten Rückstandes. Das Filtrat wurde vorsichtig mit Bicarbonatlösung neutralisiert. Dabei trat eine gelbbraune Fällung auf, von der abgesaugt wurde. Der Rückstand war in Salzsäure löslich und gab keine SH- und Eisenchloridreaktion. Es handelte sich hierbei um die entphenacetylierte Base (Schmp. 98° u. Zers.). Das Filtrat enthielt Penicillamin, welches nach Eindampfen als viskoses Öl anfiel und starke SH- und Eisenchloridreaktion gab.

N-α-Brom-propionyl-S-benzylpenicillamin

22,4 g S-Benzylpenicillamin werden in 100 ccm 8proz. NaOH und 100 ccm Wasser gelöst und die Lösung auf −3° abgekühlt.

Zu der Lösung wurden unter weiterer Kühlung allmählich tropfenweise 27,8 g α-Brompropionylbromid zugegeben. Die Temperatur steigt langsam bis gegen 10° an. Das Reaktionsprodukt fällt bei noch alkalischer Reaktion als weißer Niederschlag aus, der immer dicker wird, während die alkalische Reaktion mehr und mehr zurückgeht. Nach der Filtration wird das Rohprodukt in verd. NaOH gelöst und mit Salzsäure wieder gefällt.

Reinigung durch Umkristallisation aus Eisessig-Wasser. Schmp. 132° u. Zers. Ausbeute 10 g.

$C_{15}H_{25}O_3BrSN$ (374) Ber. N 3,73 S 8,56 Br 21.4
Gef. „ 3,74 „ 8,44; 9,09 „ 22,17.

N-(α-Aminopropionyl)-S-benzyl-dimethylcystein

10 g N-(α-Brompropionyl)-S-benzyl-dimethylcystein werden mit 200 ccm 24proz. Ammoniak 10 Stunden bei 100° in der Druckflasche erhitzt. Aus der stark eingeengten, alkalischen Flüssigkeit kommt das Umsetzungsprodukt zunächst gallertig heraus und wird bei einigem Stehen grob kristallin. Zum Unterschied von dem Ausgangsmaterial ist es restlos in verdünnter Salzsäure löslich. Schmp. 118°.

$C_{15}H_{23}O_3N_2S$ (311) Ber. N 9,00 S 10,29
Gef. „ 8,31 „ 9,91.

Umsetzung mit Phenacetylchlorid. 8,4 g Substanz werden in 25 ccm 8proz. NaOH und 50 ccm Wasser gelöst. Bei 0° werden gleichzeitig 8,2 g Phenacetylchlorid und 25 ccm NaOH zugetropft. Die milchig trübe Lösung wird mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Das Reaktionsprodukt scheidet sich als zäher Sirup ab. Nach Abgießen der Flüssigkeit wird der Sirup mit wenig konz. Ammoniak angerieben. Es tritt vorübergehende Lösung ein, nach kurzem Stehen erstarrt die Flüssigkeit zu einem dicken Kristallbrei des Ammoniumsalzes von XXI. Das rohe Ammoniumsalz wurde in der für die Darstellung von Verbindung XIII angegebenen Weise mit Na in flüssigem Ammoniak entbenzyliert. Das N-(α-Phenacetylaminopropionyl)-dimethylcystein (XXI) schied sich in Form eines Öles ab, das auch nach längerem Stehen nicht kristallisierte. Die SH-Reaktion und die Eisenchloridreaktion sind stark positiv. Infolge Materialmangels konnte der Versuch vorläufig nicht wiederholt werden.

N-(α-Brom-β-methoxypropionyl)-S-benzyl-dimethylcystein

α-Brom-β-methoxypropionylchlorid. Die Säure wurde hergestellt nach der von Schrauth[17]) für die Darstellung der α-Brom-β-methoxy-isovaleriansäure beschriebenen Methode, wobei Acrylsäuremethylester als Ausgangsmaterial diente. Das Chlorid siedet bei 68—71°/15 mm.

4 g S-Benzyl-β,β-dimethylcystein werden in 20 ccm 8proz. NaOH und 20 ccm Wasser gelöst. Unter Eiskühlung werden 5 g α-Brom-β-methoxypropionsäurechlorid zugetropft. Die alkalische Reaktion wurde durch gleichzeitige Zugabe von 8proz. NaOH aufrecht erhalten. Beim Ansäuern fällt das Acylierungsprodukt zunächst ölig aus und wird bei einigem Reiben fest. Nach dem Umkristallisieren aus Methylalkohol/Wasser schmilzt es bei 108°.

$C_{16}H_{22}O_4NSBr$ (404) Ber. N 3,46 S 7,92
Gef. „ 3,67 „ 8,37.

N-(α-Amino-β-methoxypropionyl)-S-benzyldimethylcystein

5 g der Brom-Verbindung werden mit 100 ccm Ammoniak 5 Stunden bei 90° erhitzt. Die Lösung wird mit Kohle filtriert und eingeengt. Das Reaktionsprodukt hinterbleibt zumeist in Form eines sirupösen, säurelöslichen Rückstandes.

[17]) B. 55, 2783 (1922).

N-(α-Phenacetylamino-β-methoxy-propionyl)-S-benzyldimethylcystein

1,3 g der vorhergehenden Verbindung werden in 5 ccm 8proz. NaOH gelöst und 10 ccm Wasser zugegeben. Sodann werden unter starker Eiskühlung 1,45 g Phenacetylchlorid und gleichzeitig 5 ccm NaOH zugetropft. Beim Ansäuern fällt das Produkt in Form eines Sirups aus. Beim Verreiben mit Ammoniak verwandelt sich das sirupöse Produkt in eine weiße, käsige Masse, von der abgesaugt wird. Aus wenig heißem Wasser umkristallisiert, schmilzt das Umsetzungsprodukt bei 165°.

Infolge Materialmangels konnte die Entbenzylierung des Ammoniumsalzes mit Na in flüssigem Ammoniak zu XXII nur in einem Vorversuch durchgeführt werden. Die Eisenchloridreaktion und die SH-Reaktion sind bei dem in kleinen Mengen erhaltenen entbenzylierten Produkten positiv.

Natrium-skatylsulfonat, ein Antagonist von Heteroauxin beim Wurzelwachstum

Von *Theodor Wieland*, *Edgar Fischer* und *Franz Moewus*

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für mediz. Forschung, Heidelberg)

Mit 1 Figur im Text

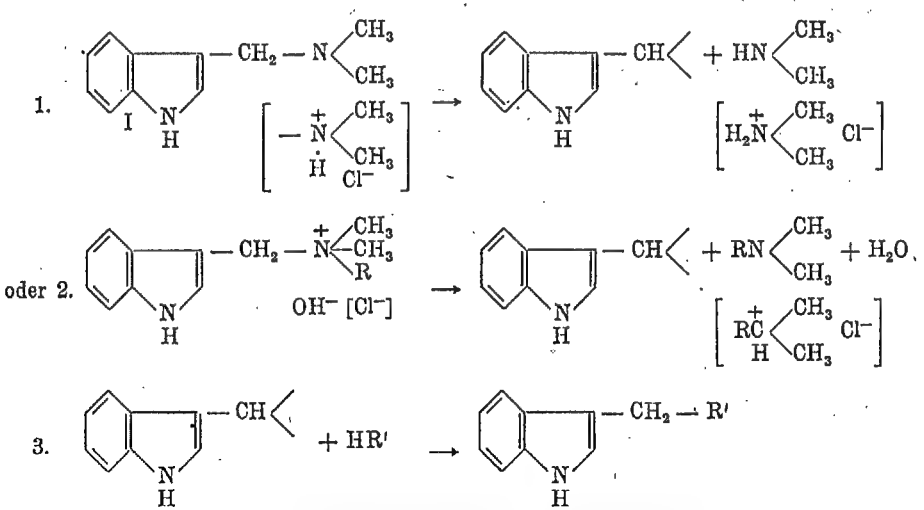
(Eingelaufen am 7. Juli 1948)

Im Gramin (β-Dimethylamino-3-methyl-indol = Skatyl-dimethylamin, I) ist die Dimethylaminogruppe besonders locker gebunden. Durch Quartärmachen des aliphatischen Stickstoffs wird die Labilisierung so weit getrieben, daß z. B. das quartäre Jodmethylat schon bei Zimmertemperatur unter Abspaltung von Trimethylammoniumjodid zerfällt und unter den Methylierungsbedingungen (Methyljodid in Äther) Tetramethylammoniumjodid auskristallisiert. Dieses Salz haben Th. Wieland und Chi Yi Hsing, die die Konstitution des Gramins ermittelt und die erste Synthese dieser Base ausgeführt haben[1]), sowie H. Kühn und O. Stein, denen man die einfachste Synthese des Gramins aus Indol, Formaldehyd und Dimethylamin verdankt[2]), irrtümlicherweise für das Graminjodmethylat gehalten. J. Madinaveitia, der diesen Irrtum aufklärte, konnte zeigen, daß die alkalische Spaltung der quartären Graminsalze bei Anwesenheit von Alkoholen zu deren Skatyläthern führt, daß es also möglich ist den aktiven Wasserstoff eines Alkohols durch den Skatylrest zu ersetzen[3]). Später haben die amerikanischen Arbeitskreise um N. F. Albertson[4]) und H. R. Snyder[5]) gefunden, daß es auch gelingt den an Kohlenstoff gebundenen Wasserstoff im Malonester oder in N-acylierten Aminomalon- oder Aminocyanessigestern mit Graminjodäthylat gegen den Skatylrest auszutauschen, was bei den zuletzt genannten Verbindungen in guten Ausbeuten zu

[1]) A. **526**, 188 (1936).
[2]) Ber. **70**, 567 (1937).
[3]) Chem. Soc. **1937**, 1927.
[4]) Albertson und Tullar, Amer. Chem. Soc. **67**, 502 (1945).
[5]) Snyder, Smith und Stewart, ebenda **66**, 200 (1944); Snyder und Smith, ebenda **66**, 350 (1944).

Kondensationsprodukten führte, die sich zu d,l-Tryptophan verseifen ließen. Aber nicht nur die quartäre Base, sondern auch das tertiäre Gramin selbst läßt sich zur Skatylierung verwenden. So gelingt es nach W. Sulzer und H. Andersag[6]) Gramin mit Blausäure oder ihren Salzen in Indolyl-3-acetonitril überzuführen, was eine bequeme Synthese des Pflanzenwuchsstoffs Indolyl-3-essigsäure (Heteroauxin) bedeutet. 2 Jahre darauf setzten Snyder und Mitarb., wieder mit dem Ziel, Tryptophan auf einfache Weise zu gewinnen, Acetaminomalonester und Acetamino-cyanessigester mit Gramin und etwas gepulvertem Ätznatron in siedendem Xylol mit guter Ausbeute um[7]). Auch Diäthylamino-3-methylindol reagiert in derselben Weise[8]). Im Nitroessigester[9]) und in Nitroparaffinen[10]) findet man einen oder sogar beide Wasserstoffatome der nitrierten Methylgruppe zum Austausch gegen den Skatylrest des Gramins bereit.

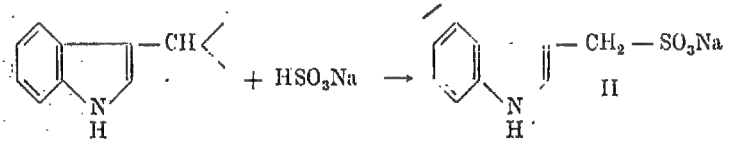
Über den Mechanismus dieser Alkylierungsreaktion lassen sich verschiedene Hypothesen aufstellen, von denen uns folgende am einfachsten erscheint: Aus der tertiären oder quartären Base und aus ihren Salzen dissoziiert der aliphatische Stickstoff unter Mitnahme eines Methylenwasserstoffs ab (Gl. 1 bzw. Gl. 2). An den zurückbleibenden ungesättigten „Skatylidenrest" lagert sich gleichzeitig HR′ an (Gl. 3). Fehlt HR′, so reagieren die ungesättigten Reste untereinander unter Bildung von Oligo- oder Polymeren unbekannter Konstitution.



[6]) Sulzer und Andersag, C. 1943, I 567. DRP 722809.
[7]) Howe, Zambito, Snyder und Tishler, Amer. Chem. Soc. 67, 38 (1945).
[8]) Jackman u. Archer, ebenda 68, 2105 (1946); Hegedüs, Helv. chim. Acta 29, 1499 (1946).
[9]) Lyttle u. Weisblat, ebenda 69, 2118 (1947).
[10]) Snyder u. Katz, ebenda 69, 3140 (1947).

Wir konnten nämlich beim Erhitzen von Gramin im indifferenten Lösungsmittel (Xylol, Isoamyläther) Dimethylamin und in der Spaltlösung ein harziges, indol-haltiges Polymeres nachweisen. Ebenso bildete sich aus Gramin-hydrochlorid beim Kochen in Xylol Dimethylaminhydrochlorid und ein xylollösliches, braunes Harz, das positive Fichtenspanreaktion gab (Gl. 1).

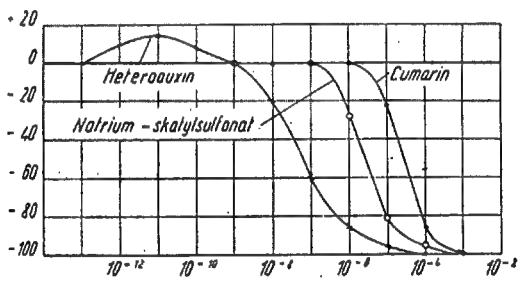
Zur Darstellung der *Skatylsulfonsäure*, die wir als Na-Salz (II) in kristallisierter Form erhalten konnten, wurde Gramin mit konz. Bisulfitlauge im Glasautoklaven mehrere Tage auf 100° erhitzt. Im Lauf der Zeit schied sich aus dem Ansatz eine dicke Kristallkruste aus, die aus dem gewünschten Na-Salz bestand, das jedoch mit Na-bisulfit verunreinigt war. Das in Wasser recht gut lösliche Salz ließ sich aus keinem der üblichen Lösungsmittel befriedigend umkristallisieren, zeigt aber, wie viele sulfonsauren Salze die Eigenschaft leichter Aussalzbarkeit, sodaß es durch Aussalzen mit NaBr und anschließendes Auswaschen des Fällungsmittels mit Methanol in analysenreinem Zustand gewonnen werden konnte.



Das Na-Salz stellt farblose, nicht schmelzbare, in reinem Zustand beständige Blättchen von herbem Geschmack dar, die schon in kleinster Menge die Speicheldrüsen zu starker Sekretion anregen. Seine wäßrige, etwas schäumende Lösung zersetzt sich beim Erhitzen über 100°; die Abspaltung von schwefliger Säure wird durch H- und OH-Ionen stark beschleunigt.

Zur Erhärtung der Konstitution wurden einige Reaktionen ausgeführt. Die Fichtenspanreaktion ist stark blauviolett, ebenso die Glyoxylsäurereaktion nach Hopkins-Cole, während die Farbreaktion mit p-Dimethylaminobenzaldehyd nur schwach gegeben wird, wie wir es auch beim Gramin beobachtet hatten[1]). Die α-Stellung am Indolring in unserem Produkt ist also unsubstituiert. Dasselbe gilt für den Indolstickstoff, da man mit Nitrit in saurer Lösung eine gelbe Sulfonsäure erhält, die als Na-Salz mit NaBr in schönen, gelben Kristallen ausgesalzen werden kann und sich durch ihre Farbe, ihre positive Liebermannreaktion und ihre leichte Spaltbarkeit durch Mineralsäuren unter Entwicklung von nitrosen Gasen als Nitrosamin zu erkennen gab. Eine Zinkstaubdestillation lieferte Skatol, das als Pikrat identifiziert wurde. Außerdem erhielt man nach Kochen mit Cyanidlösung und anschließender Verseifung des Nitrils Indolessigsäure, die auf Grund ihrer empfindlichen Violettfärbung mit Eisenchlorid-Salzsäure nach Salkowski und Ellinger nachgewiesen wurde.

Wir haben das Na-Salz der neuen Sulfonsäure auf seine pflanzenphysiologische Wirkung im Kressewurzeltest[11]) geprüft. Dazu wurden Keimlinge der Gartenkresse *(Lepidium sativum)*, sobald sie 5 mm lange Würzelchen hatten, auf Filtrierpapierscheiben gebracht, die mit der wäßrigen Versuchslösung in verschiedenen Konzentrationen getränkt waren. Nach 17stündiger Incubation in Petrischalen bei 27° im Dunkeln wurde die Wurzellänge im Vergleich zu der auf doppelt dest. Wasser erreichten gemessen. Es zeigte sich, daß bei einer Konzentration von 100 γ pro ccm das Wurzelwachstum zu 95 % gehemmt war. Noch bei 1 γ pro ccm war das Wachstum um 30 % geringer als das der Kontrollen. In Abb. 1 ist diese Wirkung im Vergleich zu jener des Blastocolins Cumarin[12]) und der des Heteroauxins, das seine wachstums*fördernde* Wirkung erst bei Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-7} γ pro ccm entfaltet, graphisch dargestellt.



Man sieht, daß die hemmende Wirkung des Cumarins durch Na-skatylsulfonat um eine Zehnerpotenz übertroffen wird. Bei Gegenwart von 10^{-5} γ Heteroauxin pro ccm, die allein eine Förderung des Wurzelwachstums um 13 % bewirken, ruft 1 γ der Sulfosäure im ccm, das ohne Wuchstoff zu 26 % hemmt, nur eine 12proz. Hemmung hervor. Berechnet wären 26 — 13 = 13% Hemmung.
Sulfonsäure und *Carbonsäure* wirken also *antagonistisch*.

Einen interessanten Effekt bewirkte unsere Substanz im Preßsaft von Kartoffeln. F. Skoog und K. V. Thimann[13]) hatten gezeigt, daß Heteroauxin in verschiedenen Pflanzen (Wasserlinse, Tabak- und Tomatenblättern) in Bindung an hochmolekulare Substanzen, wahrscheinlich Proteine vorliegt. Später haben J. Bonner und S. Wildman, die aus Spinatblättern ein heteroauxinhaltiges Protein isoliert hatten, nach Heteroauxin-Zufuhr bei Haferkeimlingen eine Erhöhung des Gehalts an gebundenem Wuchsstoff festgestellt[14]). F. Moewus konnte diese Konjugation im Preßsaft von Kartoffeln, also *in vitro* bestätigen[15]),

[11]) Moewus, Naturw. im Druck.
[12]) Kuhn, Jerchel, Moewus, Möller u. Lettré, Naturwiss. **31**, 468 (1943).
[13]) Skoog u. Thimann, Science, **92**, 64 (1940); Am. Jl. Bot. **27**, 951 (1940).
[14]) Wildman u. Bonner, Arch. Biochem. **14**, 381 (1947).
[15]) Bonner u. Wildman, Sixth Growth Sympos. S. 51 (1947).
[16]) Moewus, Ztschr. f. Naturforsch. **3b**, 135 (1948).

indem er mit dem Kressewurzeltest zeigte, daß zum Preßsaft zugesetztes Heteroauxin (10 γ/ccm) vollständig gebunden wird. Umgekehrt wurde der gebundene Wuchsstoff durch mehrstündige Incubation mit 0,5% Pankreatin in Freiheit gesetzt. Dasselbe erreicht man durch Zusatz von 100 γ des Na-skatylsulfonats zu 1 ccm des Kartoffelpreßsafts im Laufe mehrerer Stunden. Die Erklärung dafür kann in einer Verdrängung zu suchen sein, welche die Indolessigsäure durch die analog gebaute Sulfonsäure am Protein erfährt. Es kann aber auch eine Hemmungswirkung auf ein Ferment vorliegen, das bei der Bindung des Wuchsstoffs an ein spezifisches Protein im Spiel ist.

Im Gegensatz zur Sulfonsäure kommt dem Cumarin die geschilderte Wirkung nicht zu.

Versuche

Na-Salz der Skatylsulfonsäure (II)

5 g Gramin wurden mit 100 ccm Na-bisulfitlösung (d 1,34) und 100 ccm 40proz. Methanol im Glasautoklaven auf 100° erwärmt. Nach 24 Stunden wurde vom ausgefallenen geringen Niederschlag abfiltriert und 4 Tage weiter auf 100° gehalten. Dann hatte sich ein weißer Krystallkuchen abgeschieden, der abgesaugt und mit Methanol und Aceton trocken gewaschen wurde. Ausbeute 3,8 g = 57% d. Th. Zur Reinigung wurde in möglichst wenig Wasser gelöst, filtriert und durch Zusatz von festem gepulvertem NaBr ausgesalzen. Diese Operation wurde 3 mal wiederholt, das so erhaltene Salz wurde dann im Zentrifugenglas mit Methanol Bromid-frei gewaschen und schließlich auf der Nutsche trocken gesaugt. Zur Analyse wurde i. V. bei 56° getrocknet.

$C_9H_8O_3NSNa$ (233,2)

Ber.	C 46,5	H 3,49	O 20,67	N 6,03	S 13,8	Na 9,9	(aus Sulfatasche ber.)
Gef.	„ 46,96	„ 3,73	„ 20,20	„ 6,05	„ 13,75	„ 8,3	

Nach Abdampfen des Methanols und Versetzen mit festem NaBr ließ sich aus der Mutterlauge eine weitere kleine Menge des Salzes gewinnen.

Beim Versuch durch Ansäuern mit starker Salzsäure aus dem Na-salz die freie Sulfonsäure zu krystallisieren, trat alsbald unter Rotfärbung Zersetzung ein. Diese Unbeständigkeit beobachtet man auch mit verdünnten Mineralsäuren in der Hitze, wobei deutlich SO_2 nachgewiesen werden kann (Entfärbung von Jod-Stärke). Beim Kochen mit 2n Alkali wird nach kurzer Zeit Indolgeruch wahrnehmbar und die Lösung enthält dann Sulfit. Auf Zusatz von konzentrierter K-cyanidlösung zur wäßrigen Na-salzlösung fällt in der Kälte das schön kristallisierte K-Salz aus, beim Erhitzen entsteht das Nitril der Indol-3-essigsäure, das mit 30proz. KOH in der Hitze zu Indolylacetat verseift werden kann. Die konzentr. wäßrige Lösung des Na-sulfonats, die etwa 5% enthält, gibt mit $BaCl_2$ eine Trübung, die sich beim Stehen vermehrt; mit $AgNO_3$ fällt sofort ein amorphes, gelbes, lichtempfindliches Silbersalz.

Zinkstaubdestillation. 200 mg des Na-salzes werden, mit der 20fachen Menge Zinkstaub gemischt, im Supremaxrohr im Wasserstoffstrom auf 300—400° erhitzt. Das vor der Zinkstaubschicht bald erstarrende Destillat wurde mit dem Spatel herausgekratzt und in wenig Benzol gelöst. Beim Versetzen mit einer benzolischen Pikrinsäurelösung tritt zunächst Farbumschlag nach rot und darauf Kristallisation des roten *Skatolpikrats* ein. Schmp. 165—168°, Mischschmp. ohne Depression.

Nitrosamin. 0,5 g Na-Salz in 25 ccm Wasser mit 0,3 g $NaNO_2$ versetzen und unter Eiskühlung verd. Schwefelsäure bis zum Umschlag von Kongo zusetzen. Die tiefgelbe Lösung wurde nach 10 Min. mit Sodalösung genau neutralisiert und mit

festem NaBr versetzt. Gelber, kristalliner Niederschlag, der abgesaugt und aus wenig Methanol umkristallisiert wurde. Gelbe Nadeln, die leicht in Wasser und Methanol löslich sind.

$C_9H_7N_4O_3SNa, CH_3OH$ (294,2) Ber. N 9,52 Gef. N 8,83

Das Nitrosamin färbt sich schon nach einigen Stunden braun und spaltet in mineralsaurer Lösung sofort Stickoxyd ab. Seine Alkali- und Erdalkalisalze, sowie das Cu-salz sind in Wasser leicht löslich.

Über eine neue Klasse von spasmolytisch und analgetisch wirkenden Verbindungen, I

Von *Max Bockmühl* und *Gustav Ehrhart*

(Aus dem Pharmazeutisch-Wissenschaftlichen Laboratorium der Farbwerke Hoechst)

Pharmakologische Untersuchungen von O. Schaumann

[Eingelaufen am 22. Juli 1948]

Die künstliche Gewinnung schmerzstillender Wirkstoffe gilt von jeher als eines der wichtigsten Kapitel der Arzneimittelsynthese. Richtunggebend war und ist hierbei im besonderen Maße das Morphinmodell, das man auf den einfachsten konstitutiven Ausdruck zurückzuführen sich bemühte. Auf Grund der im Jahre 1881 von Vongerichten und Schrötter gemachten Beobachtung, wonach durch Destillation von Morphium mit Zinkstaub *Phenanthren* entsteht, glaubte man diesem Kohlenwasserstoff eine besondere Bedeutung für die Morphinwirkung beimessen zu sollen, eine Vorstellung, die sich bis in die neueste Zeit erhalten hat. Man benutzte also das Phenanthren als Ausgang für die in diese Richtung zielenden Versuche. Ein Erfolg ist diesen Bestrebungen nicht beschieden gewesen. Erst in der neuesten Zeit hat man Alkamine in der Phenanthrenreihe mit angeblich analgetischer Wirksamkeit synthetisiert. Daneben berücksichtigte man, daß das Morphin nicht auf dem Phenanthrengerüst als solchem, sondern seiner teilweise hydrierten Form aufgebaut ist. Auch dieser Umstand fand seinen Niederschlag in entsprechenden Arbeiten.

In der folgenden Zeit haben nun zahlreiche Forscher und Forschungskreise neben dem Phenanthren andere „Urformen" der Morphiummolekel ihren Synthesen zugrunde gelegt, wie die Isocholinstruktur, β-Phenylalkamine, das Dibenzfuran, Diphenyläther, Tetrahydro-naphthalin, Diphenyläthan, Phenylcyclohexen- und hexan etc. Grewe[1]) hat das wichtigste Schrifttum dieser Arbeiten in seiner Publikation zusammengestellt, auf welche wir zur Vermeidung von Wiederholungen verweisen. Über den Wirkungscharakter dieser Verbindungen können wir uns kein eigenes Urteil erlauben. Lediglich das α-β-Diphenyläthyl-

[1]) Ang. Chem. 1947, S. 194.

amin und das β-Oxy-α-β-diphenyläthyl-amin[2]) haben wir untersucht, konnten aber bei ihnen pharmakologische Eigenschaften im Sinne einer eindeutigen Morphin-Wirkung nicht feststellen.

In der vorliegenden Abhandlung bringen wir eine Fortsetzung der Arbeiten unseres Werkes, welche seinerzeit ihren Anfang mit der Gewinnung spasmolytisch wirksamer Verbindungen nahmen und welchen das im Jahre 1939 von Eisleb und Schaumann aufgefundene morphiumartig wirkende Dolantin zugrunde liegt. Bei der neben diesen Arbeiten von uns s. Z. gewählten zweiten Forschungsrichtung handelt es sich weniger um die Nachbildung irgendeines Strukturgliedes der Morphiummolekel, vielmehr ist bei der neuen, im folgenden geschilderten Klasse von Verbindungen lediglich der Umstand von Beachtung, daß diese ebenso wie das Morphium und Dolantin ein *quartäres C-Atom* tragen. Das Vorhandensein eines solchen quartären C-Atoms in der Morphiumstruktur hat bei den Synthesen der neueren Literatur bereits starke Beachtung gefunden[3]). Auf die Bedeutung dieser Tatsache kommen wir am Schluß unserer Ausführungen nochmals zurück.

Unser Arbeitsprogramm bestand nun in der Synthese von Verbindungen der Formel R_1RCXY.

In dieser Grundformel bedeuten R und R_1 aromatische Kerne, die auch miteinander verbunden sein können (Fluoren), X eine basische Seitenkette, Y eine Carbonylgruppe in Form einer Aldehyd-, Keton-, Acyloxy-, Ester- oder Säureamid-Gruppe.

In der *aliphatischen* Reihe sind derartige Reaktionen zum ersten Male durch unser Laboratorium im Jahre 1917 ausgeführt worden. Damals kondensierten wir Diäthylacetonitril-natrium mit Chloräthyldiäthylamin

$$(C_2H_5)_2{:}CNa(CN) + ClCH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \rightarrow (C_2H_5)_2{:}C(CN)CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$$

in der Hoffnung, nach Überführen der erhaltenen basischen Nitrile[4]) in die zugehörigen Amide zu spritzbaren Schlafmitteln zu gelangen. Diese Hoffnung erfüllte sich nicht, da die erhaltenen Amide keinen hypnophoren Charakter zeigen. Die Übertragung des obigen Vorganges auf Diarylacetonitrile mußte aussichtsvoll scheinen, da das α-C-Atom hier ungleich „saurer" ist als bei den aliphatischen Nitrilen, zumal die Verknüpfung der Chlorbase mit Benzylcyanid bereits durchgeführt ist[5]). Der Versuch zeigte, daß sich die Verknüpfung des aromatischen Nitrils mit der Chlorbase sehr glatt unter Bildung des α,α-Diphenyl-γ-diäthylaminobuttersäurenitrils $(C_6H_5)_2{:}C(CN)CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$ vollzieht. Als Verknüpfungsreagenz wurde in wenigen Fällen Natrium, sonst immer Natriumamid oder auch Phenylnatrium verwendet. Die

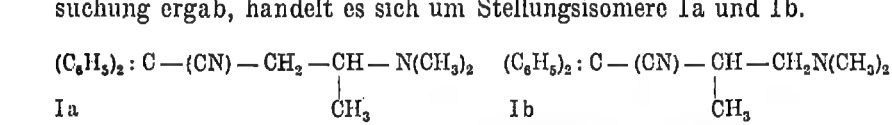
[2]) Nature **1943**, S. 614.
[3]) Grewe, l. c.
[4]) Siehe dazu auch Ziegler, A. **495**, 109, sowie DRP. 622 875.
[5]) Eisleb, Ber. **74**, 1441 (1941).

Reaktion wurde stets in benzolischer Lösung durchgeführt. Die Nitrile dienten der Herstellung von *Ketonen* durch Grignardierung und der Gewinnung der entsprechenden *Säureamide*. Zur Gewinnung der basischen *Ester* der oben gekennzeichneten Art gingen wir meist nicht von den Nitrilen, sondern der Einfachheit halber direkt von den korrespondierenden Estern aus, da es sich gezeigt hatte, daß auch diese mit den Chlorbasen in gewünschtem Sinne zu reagieren vermögen. Als halogenwasserstoffbindendes Mittel diente Phenylnatrium bzw. Diäthylacetonitrilnatrium (siehe unter „Ester").

Die *Amide* wurden ausschließlich aus den Nitrilen gewonnen, und zwar die primären durch direkte Aufrichtung der CN-Gruppe vermittelst alkohol. Kalilauge, die sekundären und tertiären über die aus den Nitrilen durch energische Verseifung erhaltenen Säuren. Diese basischen Säuren lassen sich mit Phosphorpentachlorid leicht in die Chlorhydrate der Säurechloride überführen, welche in Wasser gelöst sich sehr leicht wieder verseifen, während sie mit Aminbasen die zugehörigen Amide geben und mit katalytisch erregtem Wasserstoff in die entsprechenden Aldehyde überführbar sind.

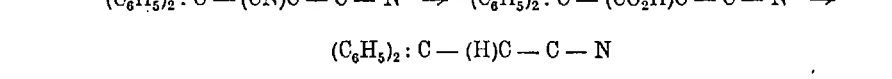
Nitrile

Die Verknüpfung der Diarylacetonitrile mit *gradlinigen* Chlorbasen geschieht stets in eindeutigem Sinne; außer den erwarteten basischen Nitrilen konnten keine Nebenprodukte aufgefunden werden. Dagegen ist der Verknüpfungsvorgang bei Chlorbasen mit verzweigter Seitenkette komplizierter. Z. B. erhielt man aus Diphenylacetonitril und 1-Dimethylamino-2-chlorpropan mit Natriumamid zwar ein Reaktionsprodukt von ziemlich konstantem Sp., welches langsam erstarrte, sich aber in zwei Fraktionen von verschiedenem Schmp. zerlegen ließ. Beide Stoffe zeigten die gleiche chemische Zusammensetzung. Wie die weitere Untersuchung ergab, handelt es sich um Stellungsisomere Ia und Ib.



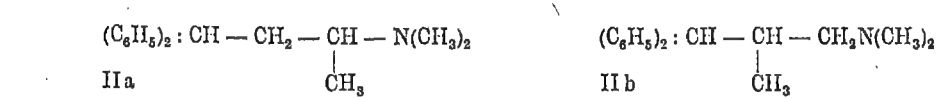
Ia Ib

Der Konstitutionsbeweis konnte auf folgende Weise geführt werden: Oben wurde ausgeführt, daß sich die Nitrile unter heftigen Bedingungen zu den entsprechenden Säuren verseifen lassen. Diese Säuren spalten beim trockenen Erhitzen auf höhere Temperatur CO_2 ab und gehen in guter Ausbeute in die α,α-Diphenyl-γ-aminopropanbasen (im Folgenden kurz „*Diphenylbasen*" genannt)



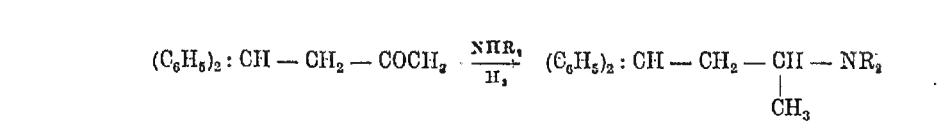
über. Auf diese Weise wird also aus den Nitrilbasen der Cyanrest herausgespalten. Diese „Diphenylbasen" lassen sich auch aus Diphenylmethan darstellen. Letzteres wird mit Phenylnatrium nach Bockmühl und Ehrhart[6]) zu Diphenylmethannatrium umgesetzt, welches mit Chlorbasen in die „Diphenylbasen" übergeführt wird. Die Abspaltung des Cyanrestes läßt sich, wie gefunden wurde, wesentlich vereinfachen durch Verwendung von Natriumamid. Kocht man die Nitrilbasen nämlich in benzolischer Lösung mit überschüssigem Natriumamid einige Stunden, so spaltet sich die Cyangruppe unter Bildung der „Diphenylbasen" — häufig mit sehr guter Ausbeute — ab. Hierbei verbindet sich das CN mit dem Natriumamid unter Bildung von Cyanamidnatrium, das als Ag-Salz isoliert werden konnte. Die Haftfestigkeit des CN-Radikals, welche ihren Ausdruck in seiner mehr oder minder leichten Abspaltbarkeit mit Natriumamid findet, wird in besonderem Maße durch die Art der basischen Seitenkette bestimmt. Während der Abbau bei unverzweigter Kette leicht und glatt erfolgt, ist die Auflockerung des CN bei einer Verzweigung stark zurückgedrängt, und zwar dann, wenn die Verzweigung in unmittelbarer Nähe des Zentral-C-Atoms steht. In diesem Falle muß man bei der Abspaltung höher siedende Lösungsmittel anwenden.

Infolge dieses Abbaues der Nitrilbasen zu den „Diphenylbasen" konnte ihre Konstitution bewiesen werden. Den aus den Nitrilbasen Ia und Ib durch Abbau entstandenen Produkten mußten die „Diphenylbasen" *1,1-Diphenyl-3-dimethylaminobutan* und *1,1-Diphenyl-2-methyl-3-dimethylaminopropan* (IIa und IIb)



IIa IIb

entsprechen. War deren Konstitution festgelegt, so war damit auch der Aufbau der Nitrilbasen erkannt. Zur Bestimmung der „Diphenylbasen" gingen wir einerseits von Benzhydrylaceton aus, welches in Gegenwart von sekundären Aminen katalytisch hydriert wurde:



Die entstandenen Basen erwiesen sich als identisch mit Verbindungen der einen Isomerenreihe der beiden „Diphenylbasen". Zur Gewinnung von Verbindungen der anderen Isomerenreihe unterwarfen wir Propio-

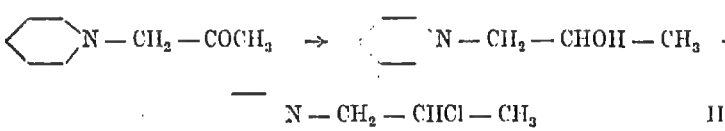
[6]) Siehe Runge, Organo-Metallverbindungen (1944) S. 25.

phenon der Mannichschen Reaktion, grignardierten das Reaktionsprodukt und hydrierten die hierbei entstandene Carbinolbase

$$C_6H_5CO-CH_2 \rightarrow C_6H_5-CO-\underset{CH_3}{CH}-CH_2NR_2 \rightarrow$$

$$(C_6H_5)_2:COH-\underset{CH_3}{CH}-CH_2NR_2 \rightarrow (C_6H_5)_2:CH-\underset{CH_3}{CH}-CH_2NR_2$$

Die erhaltenen Basen waren identisch mit Verbindungen der anderen Isomerenreihe der beiden „Diphenylbasen". Damit war auch die Konstitution der *Nitrilbasen* sichergestellt und gezeigt, daß bei der Kondensation des Diphenylacetonitrils mit den verzweigten Chlorbasen eine Wanderung einer Methylgruppe erfolgt sein muß, will man nicht annehmen, daß der Grund für die Isomerie bereits in den verwendeten Chlorbasen zu suchen war. Dies war schon deswegen nicht auszuschließen, weil wir die Chlorbasen aus α-Propylenchlorhydrin dargestellt hatten, welches aus Propylen durch Anlagerung von unterchloriger Säure gewonnen wird. Es war also nicht von der Hand zu weisen, daß das Chlorhydrin nicht reines α-Produkt war, sondern auch noch von der β-Verbindung enthielt[7]). Auch lag die Möglichkeit vor, daß das aus α-Chlorhydrin mit der sekundären Base intermediär entstandene Propylenoxyd bei weiterer Einwirkung der Base beide isomere Alkamine bildet. Um sicher zu gehen, stellten wir uns die β-Chlorbasen z. B. aus Piperidinoaceton her:



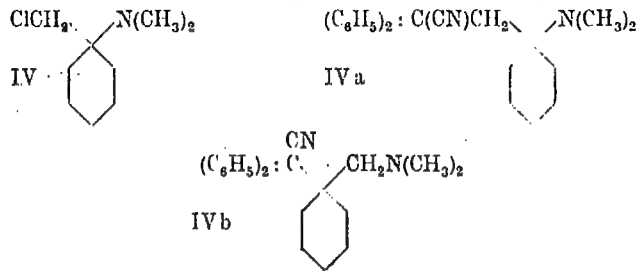
III

Aber auch diese Chlorbase, die absolut einheitlich sein mußte, gab bei der Umsetzung mit Diphenylacetonitril *beide* Nitrilbasen. Damit war bewiesen, daß die Isomerisierung bei dem Verknüpfungsprozeß erfolgt. Die Art des HCl-bindenden Mittels spielt hierbei keine Rolle, denn auch die aus dem Diphenylacetonitril mit Natrium dargestellte Natriumverbindung ergab kein anderes Resultat. Und diese Erscheinung ist auch bei den analogen Chlorbasen anzutreffen, mögen sie sich von aliphatischen Aminen, von Piperidin, Pyrrolidin oder Morpholin oder anderen Basen ableiten[8]). Diese immer wieder beobachtete Gabelung

[7]) Siehe Beilstein I (180).

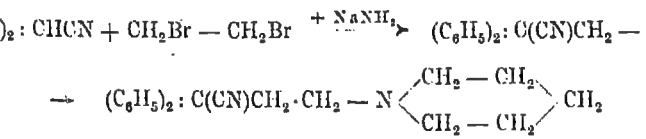
[8]) Neuerdings haben sich auch andere Arbeitskreise mit diesem Problem befaßt und unsere Auffassung bestätigt; siehe Everett M. Schultz u. Mitarb., Am. Chem. Soc. **69**, 2454 (1947); **70**, 48, 76 (1948). Auf Einzelheiten der von uns gemachten Beobachtungen kommen wir in einer späteren Publikation zurück.

der Reaktion bei verzweigten Chlorbasen erstreckt sich offenbar sogar auf cyclische Vertreter. Denn auch das *1-Chlormethyl-1-dimethylaminocyclohexan* (IV), also ebenfalls ein verzweigtes 1,2-Chloramin, führte zu 2 Nitrilbasen, welche sinngemäß als IVa und IVb

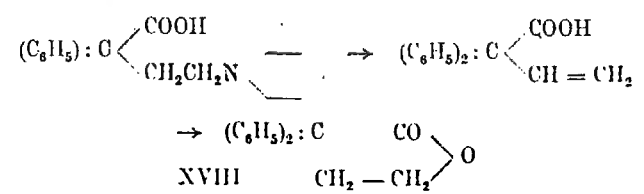


aufzufassen sind. Auch diese beiden Nitrilbasen konnten mit Natriumamid in die zugehörigen „Diphenylbasen" übergeführt werden, allerdings erst bei stark erhöhter Temperatur (Paraffinöl bei 180°).

Auf Grund dieser Resultate kann es keinem Zweifel unterliegen, daß die Bildung der basischen Nitrile mit einem Umlagerungsvorgang an dem basischen Radikal verknüpft ist. Diese Gabelung der Reaktion tritt nicht nur bei den 1-Chlor-2-aminen, sondern auch bei den 2-Chlor-1-aminen auf. Übrigens lassen sich die Nitrile auch durch Kondensation von Diphenyl-acetonitril mit Alkylen-dibromiden in Gegenwart von Natriumamid und Austausch des zweiten Bromatoms gegen Amine gewinnen, z. B.



Die nach obigem Verfahren gewonnenen Nitrile sind stabile Verbindungen, welche sich i. V. unzersetzt destillieren und, wie bemerkt, durch brüske Mittel verseifen lassen. Bei der oben erwähnten Decarboxylierung wurde anhand der Diphenylpiperidinoäthylessigsäure festgestellt, daß sich hierbei zu etwa 15 % das *α,α-Diphenyl-γ-butyrolakton* bildet, welches durch Abspaltung von Piperidin über die Diphenylvinylessigsäure entstanden zu denken ist:

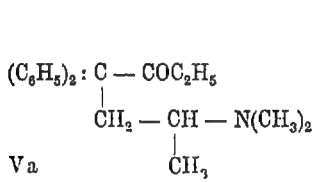


Durch Erhitzen dieses Laktons mit Piperidin lagert sich die Base wieder an, aber nicht, wie man erwarten sollte, an die Carbonylgruppe unter Bildung des Diphenyloxäthylpiperidids, vielmehr bildet sich die Diphenylpiperidinoäthylessigsäure zurück.

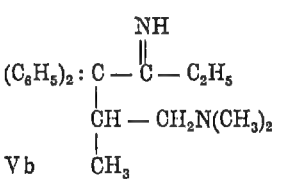
Ketone und Aldehyde

Die basischen Diphenylketone wurden aus den vorbeschriebenen Nitrilen durch Grignardierung gewonnen. Dabei machte sich der reaktionserschwerende Einfluß des durch die 2 Phenylgruppen und die basische Seitenkette belasteten Zentral-C-Atoms in besonderem Maße bemerkbar. In allen Fällen mußte nach erfolgter Behandlung des Nitrils mit dem in Äther gelösten Grignardreagenz anschließend in Toluol oder Xylol gekocht werden. Auch bei der Zerlegung der Reaktionsmasse mit HCl machte sich die Reaktionsträgheit wieder bemerkbar. Obgleich die Zersetzung häufig in der Hitze unter Wegkochung des Lösungsmittels vorgenommen wurde, war die Spaltung in mehreren Fällen nur bis zum Ketimid erfolgt, so daß dieses noch gesondert zerlegt werden mußte, manchmal sogar unter Druckanwendung.

Diese Erscheinung tritt vornehmlich bei *verzweigten* Seitenketten auf. Wir greifen als Beispiel die Reaktion von Ia und Ib mit C_2H_5MgBr heraus. Trotz energischer Zersetzung konnte nur das *2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanon(5)* (Va) unmittelbar isoliert werden, während das Isomere in Form des Ketimids (Vb) gefaßt wurde,



Va



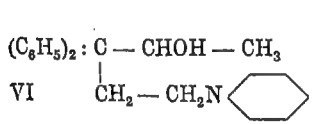
Vb

welches erst durch Erhitzen mit HCl im Rohr in das zugehörige Keton überging. Also auch hier wieder die Reaktionserschwerung besonders dann, wenn sich die Verzweigung in der unmittelbaren Nachbarschaft des Zentral-C-Atoms befindet.

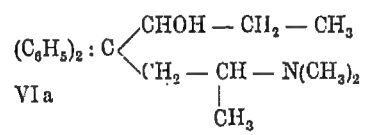
Eine weitere Steigerung der Reaktionsträgheit der basischen Nitrile gegenüber Grignardreagenz zeigt sich bei *verzweigten* Alkylmagnesiumhalogeniden. Hier gelang die Umsetzung selbst unter massiven Bedingungen nicht mehr oder kaum. Indessen konnte hier ein Ausweg gefunden werden: Da, wie wir im nächsten Abschnitt sehen werden, die Reaktionsträgheit den korrespondierenden basischen *Estern* in ähnlichem Maße eigen ist wie den Nitrilen, so bestand die Möglichkeit, daß, falls die Ester mit Grignard-Reagenz überhaupt in Reaktion treten, die Umsetzung nach Erreichung der Ketonstufe ihr Ende erreichen und nicht, wie meist üblich, zu den tertiären Carbinolen weiterschreiten würde.

Diese Annahme bestätigte sich. Selbst bei Anwendung des 3—4fachen mol. Überschusses an Grignardreagenz konnten nur die Ketone, keine tertiären Carbinole, gefaßt werden. Nach dieser Methodik wurde eine Reihe von Ketonen erhalten (siehe experimenteller Teil). Wir haben weiter untersucht, wie sich die Carbonsäuren dieser Reihe, ihre Chloride und Amide gegenüber Grignardreagenz verhalten. Es zeigte sich, daß in allen untersuchten Fällen die erwarteten Ketone entstehen, so daß also die mehrgestaltige Ketonsynthese nach Grignard, von graduellen Unterschieden und der Notwendigkeit brüsker Reaktionsbedingungen abgesehen, auch für unsere Reihe Geltung behält. Die basischen Diphenylketone sind stabile Substanzen, welche i. V. unzersetzt destillieren und meist gut kristallisierende Salze bilden. In einigen Fällen fallen diese bereits bei der Zerlegung der Einwirkungsprodukte von Grignardreagenz auf die Nitrile mit HCl in öliger oder fester Form (als Chlorhydrat) aus.

Die mehrfach erwähnte Reaktionsträgheit der bas. Diphenylabkömmlinge äußert sich darin, daß die Ketone kaum mit Ketonreagenzien reagieren. Dagegen gelingt die Reduktion der Ketogruppe zum Alkohol, u. zw. bei den unverzweigten mit katalyt. erregtem Wasserstoff, bei den verzweigten dagegen mit Natrium und Alkohol. So konnten z. B. das 1-Piperidino-3,3-diphenylpentanol(4) (VI) und 2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanol(5) (VIa)



VI



VIa

erhalten werden.

In pharmakologischer Beziehung interessieren diese basischen Alkohole *im Gegensatz zu ihren Estern* nicht, da, wie weiter unten gezeigt wird, die den basischen Diphenylketonen zukommende Wirkung an eine ziemlich eng begrenzte Molekülstruktur gebunden ist und oft durch geringfügige Änderung der Molekel stark abgeschwächt wird oder verloren geht.

Eine orientiernde pharmakologische Untersuchung einiger Ketone der besprochenen Konstitution zeigte nämlich, daß wir es hier mit zum Teil ganz ausgezeichnet analgetisch wirkenden Substanzen zu tun haben. Und zwar ist der morphinartige Wirkungshabitus, gemessen an den üblichen pharmakolog. Testen, ein ganz ähnlicher wie der der *Dolantin*-Gruppe. Auch die in der Morphin-Reihe von Straub-Herrmann festgestellte Reaktion an weißen Mäusen (katatonische S-förmige Schwanzhaltung über dem Rücken), die bereits bei der *Dolantin*-Gruppe[9])

[9]) Schaumann, Arch. exp. Path. u. Pharmakol. **196**, 109.

beschrieben wurde, finden wir hier wieder. Gegenüber der stark ausgeprägten zentralanalgetischen Eigenschaft tritt die Bedeutung der daneben auftretenden, am Nerven- und Gefäßmuskelpräparat festgestellten spasmenlösenden Wirkung in den Hintergrund und soll hier unbeachtet bleiben oder nur in den Tabellen kurz notiert werden.

In weiterer Verfolgung unserer Problemstellung war jetzt die Strukturspezifität der bas. Diphenylketone näher festzustellen. Es ergab sich also die Aufgabe, Variationen an der basischen Seitenkette, der Ketonseitenkette und am Zentral-C-Atom vorzunehmen.

a) Basische Seitenkette (s. Tab. I A)

Es zeigte sich, daß die Art des Aminrestes die pharmakologische Wirkung nicht sehr modifiziert: Dialkylamine, Piperidin, Pyrrolidin lassen den gleichen oder ähnlichen, innerhalb solcher Reihen zu erwartenden Effekt erkennen[10]) (s. Tab. I A und B).

Auch das Morpholinradikal zeigt kein abweichendes Verhalten. Dieser Wirkungskonstanz in der homologen Reihe gegenüber überrascht das völlige Absinken der Wirkung bei dem 1-Methylbenzylamido-3,3-diphenylhexanon(4) mit dem spasmolytisch wirkenden Benzylradikal am Stickstoff (10691).

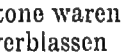
Weiter konnte an einem reichen, z. T. in der Tabelle aufgeführten Untersuchungsmaterial festgestellt werden, daß die günstigsten Wirkungsverhältnisse offenbar bei einer Kette mit 2 C-Atomen liegen. Jedenfalls läßt sich nach den in der Reihe der zugehörigen Ester gemachten Erfahrungen folgern, daß eine Ketten*verlängerung* mit bedeutender Wirkungsverschlechterung verbunden ist. Eine Ketten*verkürzung* wurde durch Kondensation von Diphenylacetonitril mit CH_2O und $NH(CH_3)_2$ angestrebt. Das erhaltene Nitril (VII) $(C_6H_5)_2{:}C(CN)\,CH_2N(CH_3)_2$ ließ sich indessen nicht mit Grignardreagenz umsetzen, da ein Teil unangegriffen blieb, während bei einem anderen, größeren Teil die $-CH_2N(CH_3)_2$-Gruppe wieder abgespalten wurde unter Regenerierung des Diphenylacetonitrils (siehe dazu auch den korrespondierenden Ester, Seite 65).

Der günstige Einfluß der 2-Kohlenstoffkette zeigt sich besonders im Falle einer Verzweigung durch eine Methylgruppe. Interessant ist hierbei der Einfluß ihrer Haftstelle. Man beachte, daß eine in β-Stellung zum Zentral-C-Atom stehende Methylgruppe stets eine Wirkungssteigerung gegenüber der Grundsubstanz bringt (10600 > 10581, 10805 > 10495, 10819 > 10636, 10820 > 10582), während das analgetische Potential der α-Isomeren, welche die β-Isomeren in ihrem Effekt in keinem Falle erreichen, manchmal unter das der unverzweigten Derivate sinkt (vgl. 10704 > 10581). Berücksichtigt man noch, daß eine

[10]) Als pharmakologische Vergleichssubstanz diente das *1-Methyl-4-phenyl-4-carbäthoxypiperidin* (Dolantin).

Verzweigung durch *Äthyl* bereits die Wirkung zerstört (11341), so sieht man, wie konstitutionsbedingt das pharmakodynamische Bild in dieser Körperklasse ist. Demgegenüber kann es nicht überraschen, wenn Verbindungen, in denen einzelne Glieder der basischen Seitenkette zu einem Ring angeordnet sind (10965, 11288, 11381) nur ein negatives Resultat erkennen lassen. Ergänzend sei noch bemerkt, daß ein *quartäres N-Atom* die Wirkung völlig zerstört (11355), was im Hinblick auf die anders gearteten physikalisch-chemischen und pharmakologischen Eigenschaften der quartären Ammoniumverbindungen nicht überraschend ist.

b) Ketonseitenkette (s. Tab. I B)

Wie ein Vergleich der Äthylketone der Tab. I A mit den Ketonhomologen der Tab. I B zeigt, steigt die Wirkung von den Methylketonen an und erreicht bereits bei den Äthylketonen ihr Optimum, während *Propyl* (10504) stark absinkt, merkwürdigerweise im Gegensatz zu *Allyl*, welches wieder einen stark eutherapeutischen Einfluß verrät (11183). Auch die *verzweigten* Alkyle zeigen ein unterschiedliches Verhalten: Die Isopropylgruppe (11151) wirkt nachteilig, die *Isobutyl*gruppe (11156) dagegen vorteilhaft. Auffallend ist das Ergebnis, wenn man die homologe Ketonreihe hinabschreitend bis Alkyl = H, also zum Aldehyd (VIII) $(C_6H_5)_2$:C:(CHO) CH_2CH_2N  gelangt.

Dieser zeigt wieder einen ausgesprochen eutherapeutischen Effekt.

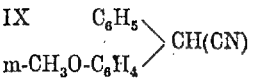
In der Reihe der *aromatischen* Ketone waren keine Treffer zu finden: Die Phenylketone (10505, 10515) verblassen in der Wirkung stark, das Benzylketon (10657) sinkt auf Null herab.

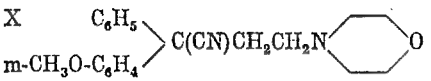
Bemerkenswert ist auch der schon erwähnte Umstand, daß die hohe Wirkungskapazität der Ketone durch Hydrierung der Carbonyl- zur Alkoholgruppe völlig verloren geht (10639), bei Veresterung aber wieder hergestellt wird.

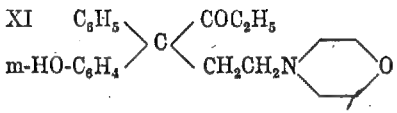
c) Die Kohlenwasserstoffreste des Zentral-C-Atoms (s. Tab. I C)

Die diese Fragestellung betreffende Untersuchung hat eine ziemlich strenge Strukturspezifität für die Erzeugung einer analgetischen Wirkung erkennen lassen. Das Optimum der Wirkung liegt ohne Ausnahme bei den Phenylradikalen. Bereits der Ersatz von Phenyl durch Tolyl führt zu starker Wirkungseinbuße. Gleiches gilt für Chlorphenyl. Selbst ein phenolisches OH (10802) und Methoxyl (10800) wirkt stark abschwächend, obgleich man im Hinblick auf den phenolischen Charakter des Morphins eher einen eutherapeutischen Effekt erwarten konnte. Zur Gewinnung derartiger phenolischer Ketone gingen wir von den ent-

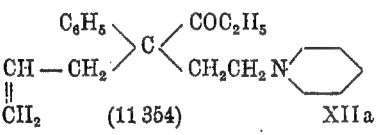
sprechenden Phenolmethyläthern aus, die zum Schluß der Synthese entmethyliert wurden, z. B.

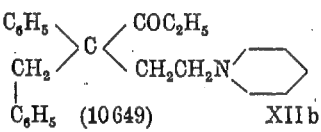
IX 

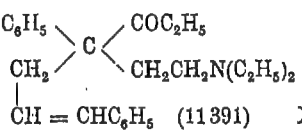
X 

XI 

Ebenso interessierte die Frage nach dem Wirkungsbild, wenn eines der beiden Phenyle durch eine aliphatische Kette vom Zentral-C-Atom getrennt ist oder durch Allyl ersetzt ist. Es wurden daher einige Stichversuche gemacht und nach dem oben skizzierten Reaktionsschema folgende Verbindungen dargestellt:


(11354) XIIa

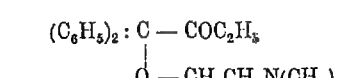

(10649) XIIb

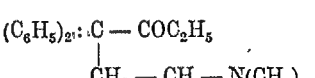

(11391) XIIc

Wie man aus der Tabelle ersieht, führt dieser Weg zu analgetisch unwirksamen Verbindungen.

Überblickt man das bis jetzt vorliegende Untersuchungsmaterial, so kommt man zu dem Ergebnis, daß die Gewinnung stark analgetisch wirkender Verbindungen der obigen Struktur von der Intaktheit der bigeminierten Phenylkerne abhängt.

Diese unmodifizierte Phenylstruktur ist indessen nur *Vorbedingung* und gilt nur für den erwähnten Konstitutionstyp. Eine andere Gestaltung des Zentral-C-Atoms, z. B. die Fixierung des bas. Radikals über eine O-Brücke (11245) löscht die Wirkung aus (XIII).


XIII


XIIIa

Solche Substanzen haben wir gewonnen ausgehend vom Benzylsäureäthylester durch Veräthern der OH-Gruppe vermittelst Chlorbasen und Natriumamid und Umsetzung der entstandenen Ätherester mit

Grignardreagenz. Die Substanzen zeigen keine analgetische Wirkung mehr, sondern sind Spasmolytica[11]).

Wie aus dem Formelbild zu ersehen ist, besitzen unsere das Optimum an analgetischer Wirkung darstellenden Diphenylketone mit einer verzweigten Seitenkette ein asymmetrisches C-Atom. Im Hinblick auf das häufig stark unterschiedliche physiologische Verhalten optischer Antipoden unternahmen wir auch im Hinblick auf diese Frage einige orientierende Versuche. Wir greifen das Keton 10820 (XIIIa) heraus. Der mit Weinsäure erhaltene Linksantipode schied sich in wohl definierter Form ab. Die tierexperimentelle Untersuchung der in Form des Chlorhydrates verwendeten Substanz ergab eine 1½fach stärkere Wirkung gegenüber der Razemverbindung, so daß der Rechtsantipode als um den gleichen Betrag schwächer wirksam anzusehen ist[12]).

Ester

Die sich von der eingangs aufgestellten Grundformel ableitenden basischen Diphenylester wurden, wie schon bemerkt, nur zum kleinsten Teil aus den Nitrilen über die Säuren hergestellt. In den meisten Fällen gelang die Einführung des basischen Restes unmittelbar in die Ester der Diphenylessigsäure.

In früheren Untersuchungen wurde gefunden, daß man in glatter Reaktion unter bestimmten Bedingungen aus Chlorbenzol und Natrium Phenylnatrium darstellen kann und daß sich dieses Phenylnatrium sehr gut dazu eignet, das Natrium auf andere Verbindungen mit aktivierten Wasserstoffatomen zu übertragen. So gelang es z. B. damals mit Hilfe von Phenylnatrium aus Diäthylacetonitril Diäthylacetonitrilnatrium unter Rückbildung von Benzol darzustellen, und daraus durch Einwirkung von Alkylhalogeniden tertiäre Nitrile zu gewinnen[13]). Die Übertragung von Natrium mit Hilfe von Phenylnatrium auf andere Verbindungen wurde an vielen Beispielen studiert, die Ergebnisse sind bis jetzt ausschließlich in der Patentliteratur niedergelegt. Oft ist es nun zweckmäßig, zur Natriumverschiebung nicht das außerordentlich reaktionsfähige Phenylnatrium zu verwenden, besonders dann nicht, wenn man beabsichtigt, die Natriumverbindung einer Substanz herzustellen, die außer einem aktiven Wasserstoffatom noch andere reaktionsfähige Gruppen enthält, welche z. B. mit Phenylnatrium sehr leicht Additionsreaktionen eingehen können. Man schaltet dann eine Ver-

[11]) FP. Nr. 880 393 der Ciba AG, in welchem die Verbindung auf andere Weise erhalten wird.

[12]) Von den bisher beschriebenen Substanzen wurde das 1,1-Dimethylamino-3,3-diphenylhexanon(4) im Jahre 1947 als Codein-Ersatz unter dem Namen TICARDA-HUSTENTROPFEN in den Handel gebracht, während das 2-Dimethylamino-4,4-diphenyl-heptanon(5) demnächst als Morphin-Ersatzmittel auf den Arzneimarkt kommen soll.

[13]) DRP. 622 875.

bindung dazwischen, bei der diese Reaktionsfähigkeit schon weitgehend gemindert ist und da hat sich z. B. gerade das Diäthylacetonitrilnatrium, wenn es sich darum handelt, das am Esterradikal stehende Wasserstoffatom durch Natrium zu ersetzen, sehr gut bewährt. Praktisch verläuft dieser Vorgang recht einfach. Man isoliert keine Zwischenstufen, sondern es werden Natrium, Chlorbenzol und Diäthylacetonitril aufeinander einwirken gelassen und dann der Ester zugesetzt. Es gelingt so mit guter Ausbeute aus Diphenylessigester das Diphenylessigesternatrium herzustellen und daraus durch Einwirkung von Halogenbasen wie z. B. Piperidinoäthylchlorid, Piperidinoäthyldiphenylessigester zu gewinnen. Der gesamte Reaktionsablauf wird durch dieses Formelbild veranschaulicht:

$$2\,Na + C_6H_5Cl + (C_2H_5)_2 : CHCN \rightarrow (C_2H_5)_2 : CNaCN + (C_6H_5)_2 : CHCO_2C_2H_5 \rightarrow$$

$$(C_6H_5)_2 : CNaCO_2C_2H_5 + Cl - CH_2 - CH_2 \cdot N\begin{cases} CH_2 - CH_2 \\ CH_2 - CH_2 \end{cases}\!\!>\!CH_2$$

$$\rightarrow \quad (C_6H_5)_2 : C\begin{cases} CH_2 - CH_2 - N< \\ CO_2C_2H_5 \end{cases} \qquad \begin{matrix} (9496) \\ XIV \end{matrix}$$

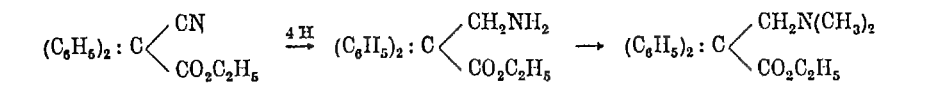
Trotz dieser verschiedenen Zwischenstufen werden bei dieser Reaktion leicht 80 % der Theorie und mehr erreicht.

Die tierexperimentelle Untersuchung ergab, daß auch den basischen *Estern* der genannten Struktur eine sehr gute analgetische Wirkung zukommt, welche hier und da die der korrespondierenden Ketone erreicht, wenngleich das Gesamtbild zu Gunsten der Ketone entscheidet. Es ergab sich also auch hier zwangsläufig die Aufgabe einer umfangreichen Variation. Diese Veränderungen erstreckten sich wiederum auf die basische Seitenkette und die Kohlenwasserstoffreste des Zentral-C-Atoms und ferner auf das Esterradikal.

a) Basische Seitenkette (s. Tab. II A)

Auch in der Esterreihe erwies sich die Art des Aminrestes, soweit es sich um Dialkylamin, Piperidin, Morpholin und Pyrrolidin handelt, abgesehen von wenigen Ausnahmen, von geringer Bedeutung; wichtiger dagegen ist wieder die Länge der Seitenkette. Das Optimum liegt auch hier bei der 2 C-Zahl, denn die dreigliedrige geradlinige Kette läßt einen starken Abfall der Wirkung erkennen (10061). Das gleiche gilt für den Fall, daß die beiden C-Atome mit dem Stickstoff heterozyklisch angeordnet sind und ferner, daß das Zentral-C-Atom mit dem Basenradikal

nur durch ein einziges C-Atom verknüpft ist (10496, 11565). Letztere Verbindung wurde nach folgender Reaktion hergestellt:



(11565) XIX

Bei dem Versuch, den basischen Ester durch Grignardierung mit C_2H_5MgBr in das zugehörige Keton überzuführen, wurde zum größten Teil ein nicht basisches Produkt erhalten, dessen Analysenzahlen auf das 1,1-Diphenyl-butanon(2) schließen lassen. Demnach ist durch die Grignardierung zwar die Estergruppe in die Ketongruppe übergeführt, aber gleichzeitig auch der basische Rest zum großen Teil aus der Molekel herausgespalten worden.

Ergänzend haben wir noch einen basischen Ester, in dem der Aminrest direkt am Zentral-C-Atom steht, den Diphenyl-dimethylaminoessigsäuremethylester (9773) dargestellt, der wegen der schlechten Wasserlöslichkeit seiner Salze in Tributylphosphat untersucht wurde. Analgetische Eigenschaften kommen der Verbindung nicht zu. Demnach ist auch bei den basischen *Estern* die Struktur :C — C — C — N für die Wirkung entscheidend. Bestehen hier also ähnliche Verhältnisse wie bei den basischen Ketonen, so befremdet der geringere Wirkungseffekt bei den Verbindungen mit verzweigter Kette (10275, 10334, analog XIV). An wie enge Grenzen der Molekülstruktur manchmal die Wirkung gebunden ist, sieht man wieder an der unwirksamen Piperidinoäthylverbindung 10455, die sich von der gut wirkenden Grundsubstanz (9496) nur durch ein Mehr von 2 Alkylgruppen im Piperidinring unterscheidet.

b) Esterradikal (s. Tab. II B)

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, liegt das Wirkungsoptimum bei den niedrigen Alkylen (Methyl, Äthyl, Isopropyl), während Aralkyl und Phenyl verschlechternd wirken.

c) Die Kohlenwasserstoffreste des Zentral-C-Atoms (s. Tabelle IIC)

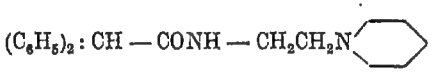
Wie in der *Keton*reihe stellen auch in der *Ester*reihe die am Zentral-C-Atom haftenden Radikale einen der wichtigsten Faktoren für das Zustandekommen der analgetischen Wirkung dar. Die Verhältnisse, die wir dort aufgezeichnet haben, gelten auch für die Esterreihe. Demnach gilt auch hier wieder, soweit das vorhandene Tatsachenmaterial eine Beurteilung zuläßt, das Postulat von der Intaktheit der Phenylkerne: Alkoxyl schwächt stark ab, Zusammenkoppeln der Phenylkerne (Fluoren) wirkt ebenfalls ungünstig oder löscht die Wirkung aus (9604, 9599). Weiter wurde in der Esterreihe versucht, die Phenylkerne zu hydrieren, um den Einfluß der hierdurch geänderten Struktur auf das

pharmakologische Bild kennenzulernen. Die Hydrierung wurde mit der Substanz 9496 (XIV) vermittelst Platin durchgeführt, wobei stufenweise beide Phenylkerne aufhydriert wurden (10543, 10544). Das Resultat ist wieder das gleiche: Sehr starker Rückgang der Wirkung.

Die Sichtung des bisher vorliegenden Materials zeigt viele Einzelfälle, die sich sehr wohl auf einen gemeinsamen Nenner bringen und somit eine Gesetzmäßigkeit erkennen lassen, wenn auch hier und da noch Lücken festgestellt wurden. Man darf eben nicht vergessen, daß unser eingangs formuliertes Grundmolekül eine Vielheit von variablen, sich gegenseitig beeinflussenden Merkmalen aufweist. Infolge der hierdurch verursachten Schwierigkeit mußte zwangsläufig manche Einzelfrage noch zurückgestellt werden.

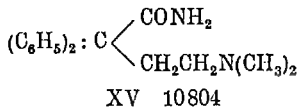
Amide

Die Gewinnung der obiger Grundformel entsprechenden Amide geschah zum Teil durch Aufspaltung der zugehörigen Nitrile, zum Teil über die entsprechenden Säuren, die ihrerseits entweder aus den Nitrilen oder den Estern durch Verseifung hergestellt waren. Dagegen gelingt es nicht, die Einführung der basischen Seitenkette in Diarylacetamide zu bewerkstelligen. Wie ein Versuch zeigte, reagiert Chloräthylpiperidin mit Diphenylacetamid unter Verwendung von $NaNH_2$ in anderem Sinne, es entsteht *Diphenyläthylpiperidinoacetamid*:

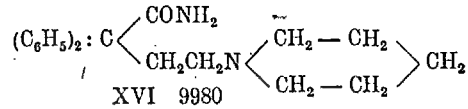


Die pharmakologische Untersuchung zahlreicher Vertreter dieser Klasse ergab ein interessantes Bild: Obgleich in der Amidreihe die gleichen basischen Seitenketten gewählt und die gleichen Veränderungen am Zentral-C-Atom wie bei den Ketonen und Estern vorgenommen wurden, *konnte wie bei den Amiden der Dolantinreihe bei keiner der zahlreichen Substanzen eine tiefere analgetische Wirkung festgestellt werden.* So zeigten sie weder eine Beeinflussung der Schmerzreaktion an der Maus nach der Methode von Haffner, noch das „Schwanzphänomen", noch den Amsler-Test[14]). Es sind zwar in wenigen Fällen Anzeichen einer solchen Wirkung vorhanden, doch tritt diese fast völlig zurück gegenüber einer anderen pharmakologischen Eigenschaft: Die Substanzen sind Krampflöser und übertreffen in dieser Beziehung die basischen Ketone und Ester — wenigstens in einigen Vertretern — sehr erheblich, und zwar äußert sich diese überragende spasmenlösende Wirkung weniger am Muskel als am Gefäßpräparat. Sie entspricht demnach weniger dem Papaverin als dem Atropincharakter. Z. B. wirkt das Amid 10804 (XV)

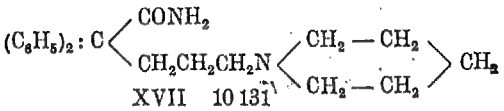
[14]) Siehe dazu Schaumann l. c.



XV 10804

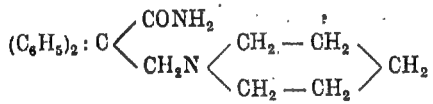


XVI 9980



XVII 10131

15mal stärker krampflösend als das entsprechende Methylketon. Die Verbindung 9980 (XVI) ist 100—200mal wirksamer als das analog konstituierte Äthylketon (10495). Auch das Amid mit *verlängerter* Seitenkette (10131) zeigt noch sehr gute Wirkung (½ von 9980). Und ebenso ist die Wirkung der Substanz mit *verkürzter* Seitenkette (XVIII, 9960)



XVIII 9960

beachtlich (¼ von 9980).

Diese erhöhte, selektiv pharmakodynamische Eigenschaft kommt indessen nur den primären Amiden zu, während die sekundären und tertiären auf Grund unserer bisherigen Versuche ohne pharmakologisches Interesse sind. Im übrigen scheinen für das Zustandekommen der krampflösenden Eigenschaft, was das Zentral-C-Atom anbelangt, ähnliche Voraussetzungen zu gelten, wie wir das bei den Ketonen und Estern bezüglich der Analgesie gesehen haben. Wenn trotz der Erfüllung dieser Bedingung das Gesamtresultat ein einheitliches Bild vermissen läßt, so ist doch das starke Hervortreten der spasmolytischen Wirkung besonders bei der Piperidinverbindung durchaus beachtlich.

Zusammenfassung

Für das Zustandekommen einer zentralanalgetischen Wirkung der in dieser Arbeit beschriebenen basischen, von der Diphenylessigsäure sich ableitenden Verbindungen sind folgende strukturelle Merkmale maßgebend:

Das Zentral-C-Atom muß 2 bigeminierte Phenylgruppen tragen. Substitution in den Phenylkernen oder Ersatz von Phenyl durch andere Radikale wie Benzyl, Cyclohexyl, Allyl usw. schwächt die Wirkung ab oder hebt sie auf.

Das Wirkungsoptimum liegt bei einer 2-gliedrigen basischen Seitenkette, welche durch Methyl verzweigt sein kann, während die Art des basischen Radikals nicht ausschlaggebend ist.

Bezüglich der *Keton*seitenkette liegt das Wirkungsoptimum bei den Äthyl- und Allylketonen und einigen Ketonen mit verzweigtem Alkylradikal.

Durch optische Spaltung konnte eine weitere Steigerung der analgetischen Wirkung erzielt werden.

Bei den *Estern* wirken die niederen Alkylradikale der Estergruppen am günstigsten.

Die *Amide* besitzen keine oder nur geringe analgetische Wirkung. Dagegen trifft man bei einigen Vertretern eine starke neurotrope, spasmolytische Wirkung an, deren Intensität die Wirkung der Ketone und Ester weit übertrifft. Hierbei kann die Länge der basischen Seitenkette variieren. Von den basischen Radikalen wirkt Piperidin am günstigsten.

Ergänzend sei noch auf die ausgeprägte neurotrope und muskulotrope spasmolytische Wirksamkeit der Seite 54 erwähnten „Diphenylbasen" hingewiesen. Auch bei diesen Verbindungen modifiziert die Stellung der Methylgruppe in der basischen Seitenkette den Grad der Wirksamkeit[15]).

Schlußwort

Zum Schluß soll noch die Frage der Abhängigkeit der Wirkung obiger Substanzen von ihrem chemischen Modell kurz gestreift werden. Wir erwähnten schon, daß die einzelnen Forscher ihre Synthesen nach verschiedenen Teilgebieten der Morphinmolekel ausrichteten, entsprechend dem Grundgerüst, welchem sie einen besonderen Anteil an der Wirkung beizumessen glaubten. Bei den in dieser Arbeit beschriebenen Verbindungen, welche das Morphium an Wirkungsstärke teils erreichen, teils sogar übertreffen, sind solche Deduktionen nicht mehr möglich. Sie würden hier völlig abwegig sein, da kein Merkmal der beschriebenen Diphenylderivate mit einem solchen der Morphinformel zur Deckung gebracht werden kann, mit einer einzigen Ausnahme, dem *quartären C-Atom.* Welche Rolle und welche Bedeutung diesem Umstand beizumessen ist, läßt sich nach dem bis jetzt vorliegenden fremden und eigenen Material z. Z. noch nicht übersehen. Jedenfalls muß es auffallen, daß sowohl die beschriebenen Diphenylderivate als auch Vertreter der Dolantinreihe dieses dem Morphium eigene Merkmal aufweisen. Es sei in diesem Zusammenhang erlaubt, auf die ausschlaggebende Bedeutung des quartären C-Atoms bei den Schlafmitteln der Barbitursäure- und Hydantoin-Reihe hinzuweisen[16]), wenngleich bei den pharmakodynamisch anders gearteten Analgeticis die Liganden andere sein müssen als bei den Schlafmitteln. Selbstredend kann es sich bei

[15]) Das 1,1-Diphenyl-3-piperidinopropan $(C_6H_5)_2$:CH—CH_2CH_2N⟨⟩ ist der Hauptbestandteil des im Handel befindlichen Asthmamittels ASPASAN.

[16]) Siehe auch G. Ehrhart, Med. u. Chemie, B. II, 1934, S. 356.

dem quartären C-Atom nur um *eine* der Grundbedingungen für das Auftreten der erwähnten pharmakologischen Wirkung handeln. Die Wirkungsabhängigkeit morphinartig wirkender Substanzen von ihrer chemischen Struktur ist damit keineswegs erschöpft.

Den Herren Dr. E. Bartholomäus, Dr. L. Stein, Dr. W. Bestian, H. Ott und R. Haas sind wir für ihre Mitarbeit zu Dank verpflichtet.

Experimenteller Teil[17])

Nitrile

γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäurenitril

a) 5 g Natriumamid werden unter 100 ccm Benzol fein gepulvert und dann eine Lösung von 20 g Diphenylacetonitril in wenig Benzol zutropfen gelassen. Die Temperatur steigt langsam bis gegen 35° an; nachdem sie wieder abgefallen ist, werden 15 g Piperidinoäthylchlorid, in wenig Benzol gelöst, zutropfen gelassen. Die Temperatur steigt dabei auf etwa 50°. Anschließend wird noch 3—4 Stunden unter Rühren bei 50° gehalten, dann wird mit Wasser versetzt, die Benzolschicht abgetrennt und mit verd. Salzsäure ausgeschüttelt. Das Chlorhydrat scheidet sich dabei als dickes Öl ab, das nach kurzer Zeit kristallin erstarrt. Es wird abgesaugt, mit wenig Wasser und Äther gewaschen. Dann wird das Chlorhydrat in verd. Natronlauge aufgenommen und die freie Base mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und der Äther abdestilliert. Es hinterbleiben 23 g Substanz, die sehr bald zu einer weißen Kristallmasse erstarren. Schmp. 76°.

$C_{21}H_{24}N_2$ (304) 0,1 g Sbst.: 3,25 ccm 1/10 n HCl, ber. 3,28 ccm.

b) 25 g fein gepulvertes Natriumamid werden mit 200 ccm Benzol übergossen und 96,5 g Diphenylacetonitril in Portionen so eingetragen, daß die Temperatur auf 35—40° gehalten werden kann. Wenn die Reaktion abgeklungen ist (nach 1 Stunde), werden 103,5 g Äthylenbromid bei 25—30° eingetropft und dann wird noch drei Stunden nachgerührt. Hierauf wird mit Wasser versetzt, mit 150 ccm 2 n-Salzsäure angesäuert, die benzolische Lösung abgetrennt, mit Natriumsulfat getrocknet, das Benzol abdestilliert und der Rückstand noch i. V. erhitzt. Es hinterbleiben 140 g eines dicken, braunen Öles. Diese werden in 70 ccm Methylalkohol gelöst, woraus beim Abkühlen 120,5 g *Brom-äthyldiphenylacetonitril* vom Schmp. 66—67° auskristallisieren. Diese werden mit 240 ccm Piperidin übergossen, 2 Stunden auf dem Dampfbad erhitzt und noch eine Stunde im Ölbad gekocht. Beim Verdünnen mit 2 l Wasser scheidet sich ein Öl ab, das bald kristallin erstarrt. Man saugt ab, wäscht mit Wasser, löst in verd. Salzsäure und filtriert blank. Dann wird mit Natronlauge alkalisch gemacht, wobei sich das γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäurenitril zuerst ölig abscheidet, aber sehr schnell kristallin erstarrt. Erhalten 100 g, Schmp. 75—76°.

γ-Dimethylamino-α,α-diphenylvaleriansäurenitril (Ia)
γ-Dimethylamino-β-methyl-α,α-diphenylbuttersäurenitril (Ib)

12 g Natriumamid und 48 g Diphenylacetonitril werden — wie oben beschrieben — umgesetzt und 31 g 1-Dimethylamino-2-chlorpropan zugetropft, wobei die Temperatur auf 35—40° gehalten wird, und schließlich noch eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung wie unter a) ergibt 58 g eines zähen Öles vom Sdp. 222—225°/17 mm, das ein Gemisch der beiden stellungsisomeren Nitrile darstellt. Zu ihrer Trennung wird dieses Gemisch in 160 ccm Petroläther gelöst. Nach einigen Tagen kristalli-

[17]) Die beschriebenen Verfahren bilden den Gegenstand zahlreicher In- und Auslandspatente und Patentanmeldungen.

sieren daraus große, derbe Kristalle der Verbindung Ia (18 g) vom Schmp. 90°. Aus wenig Methylalkohol umgelöst schmilzt es bei 91—92°.

$C_{19}H_{22}N_2$ (278) 0,1 g Sbst.: 3,60 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,59 ccm.

Die Petroläthermutterlauge wird bis zur eben kongosauren Reaktion mit alkoh. Salzsäure versetzt, wobei sich das Chlorhydrat von Ib abscheidet; aus Alkohol umgelöst zeigt es den Schmp. 226—227°. Erhalten 19,5 g. Daraus läßt sich mit Pottaschelösung die Base gewinnen, die aus wenig Petroläther umgelöst den Schmp. 69 bis 70° zeigt.

$C_{19}H_{22}N_2$ (278) 0,1 g Sbst.: 3,65 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,59 ccm.

Entsprechend erhält man mit 1-Piperidino-2-chlorpropan: *γ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäurenitril*, Schmp. 83,5°.

$C_{22}H_{26}N_2$ (318) 0,1 g Sbst.: 3,08 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,14 ccm.

γ-Piperidino-β-methyl-α,α-diphenylbuttersäurenitril, Schmp. 106—106,5°

0,1 g Sbst.: 3,10 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,14 ccm.

Mit 1-Morpholino-2-chlorpropan *γ-Morpholino-α,α-diphenylvaleriansäurenitril*, Schmp. 106°

$C_{21}H_{24}N_2O$ (320) 0,1 g Sbst.: 3,10 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,12 ccm.

γ-Morpholino-β-methyl-αα-diphenylbuttersäurenitril, Schmp. 138°

0,1 g Sbst.: 3,15 ccm 1/10 n-HCl, ber. 3,12 ccm.

Mit 1-Chlormethyl-1-dimethylaminocyclohexan *1-Dimethylamino-1-cyclopentyl-3,3-diphenylbuttersäurenitril*, Schmp. 83—85° (IVa)

$C_{23}H_{28}N_2$ (332) Ber. N 8,43
Gef. „ 8,32, 8,22.

1-Dimethylamino-2-cyclohexyl-3,3-diphenylbuttersäurenitril, Schmp. 107—108° (IVb)

Ber. N 8,43
Gef. „ 8,41, 8,38.

Das *1-Dimethylamino-2-chlorpropan* wurde folgendermaßen hergestellt: 350 g 47proz. wäßrige Dimethylaminlösung werden mit 190 ccm Wasser und 190 ccm konz. Natronlauge gemischt und dazu unter Rühren bei 40° eine Lösung von 283 g 1-Chlorpropanol(2) in 250 ccm Natronlauge und noch 200 g festes Ätznatron eingetragen. Die sich abscheidende Ölschicht wird abgehoben, mit Ätznatron getrocknet und i. V. destilliert. $Sdp._{90}$ 70°. Erhalten 185 g *1-Dimethylaminopropanol (2)*.

Zu einer Lösung von 270 g Thionylchlorid in 500 ccm Benzol werden bei 40° unter Rühren 185 g Dimethylaminopropanol eingetropft und noch eine Stunde auf dem Dampfbad erhitzt. Der erkaltete Salzbrei wird abgesaugt und mehrmals mit Aceton gewaschen. Erhalten 200 g. Diese Menge wird in wenig Wasser gelöst, mit 80 ccm konz. Natronlauge versetzt, das sich abscheidende Öl abgehoben, mit Natriumsulfat getrocknet und i. V. destilliert. $Sdp._{110}$ 60—63°. Erhalten 110 g 1-Dimethylamino(2)chlorpropan.

$C_5H_{12}NCl$ (121,5) 0,1 g Sbst.: 8,30 ccm 1/10 n-HCl, ber. 8,23 ccm.

Entsprechend können dargestellt werden:

1-Morpholino(2)chlorpropan	$Sdp._{20}$ 99—100°
1-Diäthylamino(2)chlorpropan	$Sdp._{17}$ 55°
1-Piperidino(2)chlorpropan	$Sdp._{13}$ 80— 81°
1-Pyrrolidino(2)chlorpropan	$Sdp._{19}$ 72— 73°.

Aus *Chloraceton* werden die beschriebenen Chlorbasen folgendermaßen erhalten: 92 g Chloraceton werden in 400 ccm Benzol gelöst und 170 g Piperidin zugefügt. Es scheidet sich Piperidinchlorhydrat ab, von dem abgesaugt wird. Das Filtrat wird vom Benzol befreit und das *Piperidino-acetcn* i. V. destilliert. $Sdp._{13}$ 78—80°. Erhalten 97 g.

97 g Piperidino-aceton werden in Alkohol mit Nickelkatalysator bei 80—100° hydriert. Das erhaltene *Piperidino-propanol* zeigt den $Sdp._{15}$ 83—84°. Erhalten 85 g.

82 g Piperidinopropanol werden wie oben beschrieben mit 80 g Thionylchlorid in 500 ccm Benzol umgesetzt. Nach der Aufarbeitung erhält man 96 g *1-Piperidino-(2)chlorpropan* (III).

1-Chlor-2-dimethylaminopropan	$Sdp._{110}$ 73— 74°
1-Chlor-2-piperidinopropan	$Sdp._{7}$ 72— 73°
1-Chlormethyl-1-dimethylaminocyclohexan	$Sdp._{25}$ 106—108°.

1,1-Diphenyl-2-piperidinobutan und 1,1-Diphenyl-2-methyl-3-piperidinopropan

10 g γ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäurenitril (Schmp. 83,5°) werden in 40 ccm Benzol gelöst, 10 g fein gepulvertes Natriumamid zugegeben und 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Dann wird vom Salz abgesaugt, das Filtrat vom Benzol befreit, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst, mit alkoholischer Salzsäure eben sauer gestellt und mit Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach einigen Stunden wird der erhaltene dicke Kristallbrei abgesaugt und mit Äther gewaschen. Erhalten 9,8 g 1,1-Diphenyl-3-piperidinobutan-chlorhydrat, Schmp. 214—215°.

$C_{21}H_{27}N \cdot HCl$ (329,5) Ber. N 4,24 HCl 11,07
Gef. „ 4,52 „ 11,04.

1,1-Diphenyl-3-dimethylaminobutan-bromhydrat. Schmp. 162—162,5° (IIa):

$C_{18}H_{23}N \cdot HBr$ (334) Ber. HBr 24,25
Gef. „ 24,20.

1,1-Diphenyl-3-morpholinobutan-chlorhydrat, Schmp. 198—199°:

$C_{20}H_{25}ON \cdot HCl$ (331,5) Ber. N 4,22 HCl 11,01
Gef. „ 4,02; 4,22 „ 10,95.

3 g γ-Piperidino-β-methyl-α,α-diphenylbuttersäurenitril (Schmp. 106—106,5°) werden in 15 ccm Benzol gelöst, mit 3 g Natriumamid versetzt und wie oben weiter behandelt. Man erhält 2,55 g *1,1-Diphenyl-2-methyl-3-piperidinopropan-chlorhydrat*, Schmp. 206—208°.

$C_{21}H_{27}N \cdot HCl$ (329,5) Ber. N 4,24 HCl 11,07
Gef. „ 4,36; 4,25 „ 11,15.

1,1-Diphenyl-2-methyl-3-dimethylaminopropan-bromhydrat, Schmp. 161—162°:

$C_{18}H_{23}N \cdot HBr$ (334) Ber. HBr 24,25
Gef. „ 24,12.

1,1-Diphenyl-2-methyl-3-morpholinopropan-chlorhydrat, Schmp. 228—229°:

$C_{20}H_{25}ON \cdot HCl$ (331,5) Ber. N 4,22 HCl 11,01
Gef. „ 4,16; 4,03 „ 10,93.

1,1-Diphenyl-3-piperidino-butan

19 g 1,1-Diphenylbutanon(3) (Benzhydrylaceton) werden mit 19 g Piperidin in 450 ccm Alkohol mit Nickelkatalysator bei 125° und 50—60 at Wasserstoffdruck hydriert. Vom Nickelkatalysator wird abgesaugt, der Alkohol abdestilliert und der Rückstand in 200 ccm 2 n-HCl gelöst. Beim Abkühlen scheidet sich nach einiger Zeit das Chlorhydrat vom Schmp. 213—214° aus. Mischprobe mit der oben dargestellten Substanz ergibt keine Depression.

Wird die Hydrierung mit Dimethylamin durchgeführt, so erhält man das *1,1-Diphenyl-3-dimethylaminobutan* vom Sdp.$_{12}$ 180—182° und das *Chlorhydrat* vom Schmp. 115—116°. *Bromhydrat* Schmp. 162° (IIa).

1,1-Diphenyl-2-methyl-3-piperidino-propan

10 g 1,1-Diphenyl-2-methyl-3-piperidino-propanol(1) (erhalten aus 1-Phenyl-2-methyl-3-piperidino-propanon mit Phenylmagnesiumbromid[18]) werden in 40 ccm Thionylchlorid eingetragen und bis zum Sieden auf dem Dampfbad erwärmt. Alsdann wird sofort das überschüssige Thionylchlorid i. V. abdestilliert und der verbleibende Rückstand mit Aceton angerührt. Das kristallisierte Produkt wird abgesaugt, mit Aceton gewaschen, dann in 300 ccm Alkohol gelöst und mit Palladium und Wasserstoff hydriert. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme saugt man vom Katalysator ab und entfernt den Alkohol i. V. Der erhaltene Rückstand wird in wenig Aceton aufgenommen und mit Essigester versetzt, wobei das Chlorhydrat auskristallisiert. Schmp. 206—208°.

1,1-Diphenyl-2-methyl-3-dimethylaminopropan-bromhydrat (IIb). Schmp. 161 bis 162°.

Das *α,α-Diphenyl-γ-piperidinopropan* läßt sich (wie S. 55 angegeben) auch folgendermaßen gewinnen:

Zu 101 g Natrium (Draht) in 150 ccm Benzol läßt man eine Mischung von 235 g Chlorbenzol und 336 g Diphenylmethan so eintropfen, daß die Temperatur auf 40—45° gehalten werden kann. Nach 7—8 Stunden ist die Reaktion beendet. Nun läßt man unter Kühlung bei 30—40° 240 g Piperidino-äthylchlorid zutropfen und kocht zum Schluß noch 1 Stunde unter Rückfluß. Man erhält 245 g Base, Sdp.$_{11}$ 228—232°. Das Chlorhydrat zeigt aus Alkohol und Äther den Schmp. 214°.

$C_{20}H_{25}N \cdot HCl$ (315,5) Ber. N 4,43 HCl 11,57
Gef. „ 4,38 „ 11,58.

Diphenylpiperidino-äthylessigsäure und α,α-Diphenyl-γ-buttersäurelacton

10 g Diphenylpiperidino-äthylessigsäureäthylester werden mit 50 g 25proz. alkohol. Kalilauge eine Stunde unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser verdünnt, wobei eine klare Lösung entsteht. Dann wird mit 15ccm konz. Salzsäure eben sauer gestellt und i. V. zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird mit abs. Alkohol ausgezogen, wobei nach dem Abdestillieren des Alkohols 9 g der Säure zurückbleiben. Beim Erhitzen auf 230° schmilzt sie unter CO_2-Entwicklung und bildet eine klare Schmelze, die bei 208—212°/10 mm siedet. Erhalten 6,9 g. Das Destillat wird mit alkohol. Salzsäure aufgenommen, wobei klare Lösung eintritt; nach dem Versetzen mit Äther bis zur Trübung kristallisieren 6 g *α,α-Diphenyl-γ-piperidino-propan-chlorhydrat* vom Schmp. 214—215° aus. Das Filtrat wird auf ein kleines Volumen eingeengt, wobei das *α,α-Diphenyl-γ-buttersäurelacton* auskristallisiert. Aus Alkohol umgelöst zeigt es den Schmp. 80—81°.

$C_{18}H_{14}O_2$ (238) Ber. C 80,67 H 5,88
Gef. „ 80,45 „ 6,10.

Ketone und Aldehyde

1-Dimethylamino-3,3-diphenylhexanon(4)

Zu einer Grignard-Lösung aus 192 g Magnesium, 1 l Äther abs. und 900 g Bromäthyl werden 1410 g γ-Dimethylamino-α,α-diphenylbuttersäurenitril, in 1400 ccm Toluol gelöst, portionsweise zugegeben. Nach Abklingen der Reaktion wird noch eine Stunde unter Abdestillieren des Äthers auf dem Dampfbad erhitzt. Das Reaktionsprodukt wird dann in eine Mischung von 1600 ccm konz. Salzsäure und 2,5 l Wasser eingetragen, wobei heftige Reaktion stattfindet. Es bilden sich zwei Schichten, die

[18]) Mannich u. Lammaring, B. 55, 3510—26 (1923).

obere erstarrt nach einiger Zeit zu einer derben Kristallmasse. Man saugt ab, wäscht mit 1 l 2 n-HCl und 1 l Essigester und zerlegt das entstandene Bromhydrat mit Natronlauge und nimmt die abgeschiedene Base mit Chloroform auf. Nach dem Abdestillieren des Chloroforms hinterbleiben 1300 g der Base, die mit alkohol. HCl ins Chlorhydrat übergeführt werden. Schmp. 174—175°.

$C_{20}H_{25}ON \cdot HCl$ (331,5) Ber. C 72,39 H 7,83 N 4,22 HCl 11,01
Gef. „ 72,25 „ 7,74 „ 4,20 „ 11,19.

2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanon(5) (Va, 10 820)

Zu einer Grignard-Lösung aus 1,5 g Magnesium, 15 ccm Äther abs. und 7 g Bromäthyl werden 10 g γ-Dimethylamino-α,α-diphenyl-valeriansäurenitril, in 20 ccm Toluol gelöst, zugegeben. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand im Ölbad 3 Stunden auf 135—140° erhitzt. Dann wird in 60 ccm 2 norm. Salzsäure eingetragen und noch eine halbe Stunde auf dem Dampfbad erhitzt. Es bilden sich drei Schichten aus, wovon die untere abgetrennt und, wie oben, in die Ketonbase übergeführt wird. Das Chlorhydrat zeigt aus Alkohol umgelöst den Schmp. 231°, die Base aus Methanol umgelöst schmilzt bei 78—79°.

$C_{21}H_{27}ON \cdot HCl$ (345,5) Ber. N 4,05 HCl. 10,56
Gef. „ 3,98 „ 10,72.

1-Dimethylamino-2-methyl-3,3-diphenylhexanon(4)-HCl (Vb, 11259) Schmp. 151—153°

$C_{21}H_{27}ON \cdot HCl + \frac{1}{2} H_2O$ (354,5) Ber. N 3,9 HCl 10,29
Gef. „ 4,09 „ 10,09.

2-Morpholino-4-diphenylheptanon(5)-HCl (10 600) Schmp. 223—224°

$C_{23}H_{29}O_2N \cdot HCl$ (387,5) Ber. C 71,22 H 7,74 N 3,61 HCl 9,42
Gef. „ 70,86 „ 7,58 „ 3,71; 3,61 „ 9,41; 9,11.

1-Morpholino-3,3-diphenylhexanon(4)-HCl (10 581) Schmp. 231—233°

$C_{22}H_{27}O_2N \cdot HCl$ (373,5) Ber. N 3,75 Gef. N 4,16; 4,12.

1(Methyl-benzylamino)-3,3-diphenylhexanon(4)-HCl (10 691) Schmp. 142—143°

$C_{26}H_{29}ON \cdot HCl$ (407,5) Ber. N 3,44 HCl 8,95
Gef. „ 3,47; 3,39 „ 8,73.

2-Piperidino-4,4-diphenylheptanon(5)-HCl (10 805) Schmp. 189°

$C_{24}H_{31}ON \cdot HCl$ (385,5) Ber. N 3,64 HCl 9,48
Gef. „ 3,58; 3,56 „ 9,58.

1-Piperidino-3,3-diphenylhexanon(4)-HCl (10 495) Schmp. 181—182°

$C_{23}H_{29}ON \cdot HCl$ (371,5) Ber. N 3,77 HCl 9,82
Gef. „ 3,78 „ 9,78.

2-Pyrrolidino-4,4-diphenylheptanon(5)-HCl (10 819) Schmp. 192—194°

$C_{23}H_{29}ON \cdot HCl$ (371,5) Ber. N 3,77 HCl 9,82
Gef. „ 3,95 „ 10,02.

1-Pyrrolidino-3,3-diphenylhexanon(4)-phosphat (10 636) Schmp. 172—173°

$C_{22}H_{27}ON \cdot H_3PO_4$ (419) Ber. N 3,34 H_3PO_4 23,4
Gef. „ 3,56 „ 23,80; 23,65.

1-Morpholino-2-methyl-3,3-diphenylhexanon(4)-HCl (10 704) Schmp. 217—218°

$C_{23}H_{29}O_2N \cdot HCl$ (387,5) Ber. N 3,61 HCl 9,42
Gef. „ 3,53 „ 9,41.

1-Dimethylamino-3,3-diphenylheptanon(4) (10 504) $Sdp._{10}$ 210—212°

$C_{21}H_{27}ON$ (309) Ber. C 81,60 H 8,75 N 4,54
Gef. „ 81,76 „ 8,89 „ 4,68.

1-Dimethylamino-3,3-diphenyl-4-phenylbutanon(4)-HCl (10 505) Schmp. 221—222°

$C_{24}H_{25}ON \cdot HCl$ (375,5) Ber. N 3,70 HCl 9,62
Gef. „ 3,90 „ 9,63.

1-Morpholino-3,3-diphenyl-4-phenylbutanon(4)-HCl (10 515) Schmp. 194—195°

$C_{28}H_{27}O_2N \cdot HCl$ (421,5) Ber. N 3,32 HCl 8,66
Gef. „ 3,22 „ 8,44.

1-Morpholino-3,3-diphenyl-5-phenylpentanon(4)-HCl (10657) Schmp. 101—103°

$C_{27}H_{29}O_2N \cdot HCl + 2\ H_2O$ (471,5) Ber. N 2,96 HCl 7,74
Gef. „ 2,80; 2,85 „ 7,62.

1-Piperidino-3,3-diphenyl-5-methylhexanon(4)

Zu einer Grignardlösung aus 4 g Magnesium, 75 ccm Äther und 20 g Isopropylbromid werden 45 g γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureäthylester gegeben. Man setzt 50 ccm Xylol zu, destilliert den Äther ab und kocht noch 4 Stunden im Ölbad unter Rückfluß. Nach dem üblichen Aufarbeiten erhält man die Base vom $Sdp._3$ 202 bis 204°. Das Chlorhydrat zeigt den Schmp. 181—182°.

$C_{24}H_{31}ON \cdot HCl$ (385,5) Ber. N 3,63 HCl 9,46
Gef. „ 3,66 „ 9,50.

Aus Allylmagnesiumbromid und γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureäthylester wird das *1-Piperidino-3,3-diphenylheptenon(4)-chlorhydrat* (11 183) erhalten. Schmp. 178°.

$C_{24}H_{29}ON \cdot HCl$ (383,5) Ber. HCl 9,51 Gef. HCl 9,49.

1-Piperidino-3,3-diphenyl-6-methylheptanon(4)-HCl (11 156) Schmp. 173—174° (mit Isobutylmagnesiumbromid)

$C_{25}H_{33}ON \cdot HCl$ (399,5) Ber. N 3,54 HCl 9,13
Gef. „ 3,32 „ 9,41.

1-Piperidino-3,3-diphenyl-5-methylhexanon(4)-HCl Schmp. 181—182° (mit Isopropylmagnesiumbromid)

$C_{24}H_{31}ON \cdot HCl$ (385,5) Ber. N 3,63 HCl 9,46
Gef. „ 3,66 „ 9,50.

1-Piperidino-3-phenyl-3-benzylhexanon(4)-HCl (XIIb)

Zu einer Grignardlösung aus 4,2 g Magnesium, 50 ccm Äther und 19,4 g Äthylbromid werden 28 g Phenyl-benzyl-piperidino-äthylacetonitril zugesetzt und nach Zugabe von 50 ccm Toluol und Abdestillieren des Äthers 8 Stunden auf dem Dampfbad erhitzt. Beim Aufarbeiten erhält man die Base vom Schmp. 92—93°. Das Chlorhydrat aus Alkohol umgelöst zeigt den Schmp. 218—219°.

$C_{24}H_{31}ON \cdot HCl$ (385,5) Ber. N 3,63 HCl 9,49
Gef. „ 3,92 „ 9,53.

1-Piperidino-3-phenyl-3-allylhexanon(4)-HCl. (XIIa) Schmp. 183°

$C_{20}H_{29}ON \cdot HCl$ (335,5) Ber. HCl 10,28 Gef. HCl 10,75.

1-Diäthylamino-3-phenyl-3-cinnamylhexanon(4)-HCl (XIIc) Schmp. 130—131°

$C_{25}H_{33}ON$ (363) Ber. N 3,86 Gef. N 3,89; 4,03.

1-Piperidino-3,3-diphenyl-pentanol(4) (VI)

54 g 1-Piperidino-3,3-diphenylpentanon(4) werden in Alkohol mit Nickelkatalysator bei 150° von 50—80 at Wasserstoff hydriert. Dann wird vom Katalysator abgesaugt und die Lösung i. V. vom Alkohol befreit; der Rückstand, ein dicker Sirup, wird bis zur kongosauren Reaktion mit alkoh. Salzsäure und die erhaltene, klare Lösung mit abs. Äther bis zur beginnenden Trübung versetzt. Es scheidet sich bald ein dicker Kristallbrei ab. Man saugt ab, löst nochmals in 45 ccm Alkohol, versetzt mit 90 ccm Äther und wiederholt diese Operation nochmals. Man erhält 42 g Chlorhydrat vom Schmp. 208—209°.

$C_{22}H_{29}ON \cdot HCl$ (359,5) Ber. C 73,43 H 8,35 N 3,90 HCl 10,17
Gef. „ 73,23 „ 8,46 „ 4,14 „ 10,24.

2-Dimethylamino-4,4-diphenyl-5-acetoxyheptan

10 g 2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanon(5) werden in 150 ccm n-Propylalkohol gelöst und 10 g Natrium zugegeben. Die Lösung gerät ins Sieden; wenn alles Natrium verbraucht ist, wird mit Wasser versetzt, Benzol zugegeben, der wäßrige Anteil abgetrennt, der benzolische Anteil nochmals mit Wasser gewaschen, Benzol abdestilliert und der Rückstand, der kristallin erstarrt, aus wenig n-Propylalkohol umgelöst. Das 2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanol(5) VIa zeigt den Schmp. 126—127°. Davon werden 2 g zur Acetylierung mit 10 ccm Essigsäureanhydrid 1 Stunde unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abdestillieren des Essigsäureanhydrids wird der Rückstand in Äther gelöst, mit Sodalösung und Wasser gewaschen, getrocknet und der Äther abdestilliert. Der Rückstand, der kristallin erstarrt, wird aus wenig n-Propylalkohol umgelöst. Schmp. 130—130,5°.

$C_{23}H_{31}O_2N$ (353) Ber. C 78,20 H 8,78 N 3,97
Gef. „ 78,06 „ 8,86 „ 3,83; 3,73.

Das Chlorhydrat schmilzt bei 154—155°.

α-Diphenyl-β-dimethylamino-propionsäurenitril (VII)

Diphenylacetonitril wurde mit einem Überschuß von Formaldehyd und Dimethylamin (je 5 Mol) in alkohol. Lösung 18 Stunden gekocht. Nach dem Entfernen des Alkohols wurde der Rückstand durch Lösen in verd. Salzsäure und Ausfällen der Base mit Soda gereinigt. Zersp. des Chlorhydrates etwa 160°.

$C_{17}H_{18}N_2 \cdot HCl$ (286,5) Ber. Cl 12,39 Gef. Cl 12,20.

γ-Piperidino-α,α-diphenyl-butyraldehyd (VIII, 11 192)

20 g γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäurechlorid-chlorhydrat werden mit 300 ccm reinem Benzol versetzt und unter Durchleiten von Wasserstoff bei 50° mit Palladiumkatalysator solange hydriert, bis die Salzsäureentwicklung fast zum Stillstand kommt. Vom Palladium wird abgesaugt, das Filtrat vom Benzol befreit, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, die Base mit Natronlauge abgeschieden und mit Äther ausgeschüttelt. $Sdp._8$ bei 230°. Das Chlorhydrat zeigt den Schmp. 157—158°.

$C_{21}H_{25}ON \cdot HCl$ (343,5) Ber. N 4,07 HCl 10,62
Gef. „ 3,81 „ 9,97.

1-Morpholino-3-phenyl-3-methoxyphenylbutanon(4) (X. u. XI, 10800 u. 10802)

205 g m-Methoxybenzylchlorid werden in 400 ccm Methylalkohol mit einer Lösung von 100 g Cyankali in 200 ccm Wasser und 20 g Jodkali vier Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung ergibt 169 g *m-Methoxybenzylcyanid* vom Sdp.$_{10}$ 143—145°.

65,2 g m-Methoxybenzylcyanid werden auf 105—110° erhitzt und unter Rühren 24 ccm Brom eingetropft, und noch eine Stunde bei dieser Temperatur gehalten. Dann wird abgekühlt, mit 250 ccm Benzol versetzt und bei 5—10° 58,5 g Aluminiumchlorid eingetragen und schließlich noch eine Stunde auf 60° erwärmt. Man bringt auf Eis, trennt die Benzollösung ab, wäscht mit Wasser und verd. Natronlauge, destilliert das Benzol ab und destilliert schließlich den Rückstand i. V., Sdp.$_{10}$ 175°. Erhalten 60,5 g, die bald in der Vorlage erstarren. Nach dem Umlösen aus Methanol 1:1 erhält man das *Phenyl-m-methoxyphenyl-acetonitril* vom Schmp. 56—57° (IX).

45 g dieses Nitrils werden in 150 ccm Benzol gelöst, 10 g Natriumamid zugesetzt und nach Beendigung der Reaktion 30 g Morpholinoäthylchlorid zugetropft und schließlich noch eine halbe Stunde unter Rückfluß gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man das *Phenyl-m-methoxyphenylmorpholinoäthylacetonitril* in einer Ausbeute von 53 g; Schmp. 67—68°.

Zu einer Grignard-Lösung aus 7,2 g Magnesium, 100 ccm Äther und 53 g Bromäthyl werden 50 g des oben dargestellten Nitrils zugegeben und — wie oben schon beschrieben — weiterbehandelt und aufgearbeitet. Die erhaltene Base (X) wird in alkohol. Salzsäure gelöst und bis zur beginnenden Trübung mit Äther versetzt. Das ausgefallene Chlorhydrat wird nochmals aus Alkohol und Äther umgelöst. Erhalten 42 g, Schmp. 201—202°.

$C_{23}H_{29}O_3N \cdot HCl$ (403,5) Ber. N 3,47 HCl 9,05
Gef. „ 3,49 „ 9,08.

1-Morpholino-3-phenyl-3-m-oxyphenylbutanon(4)-HCl (XI)

erhält man aus der Methoxyverbindung in üblicher Weise mit Aluminiumchlorid in Nitrobenzol. Es zeigt den Schmp. 103—104°.

$C_{22}H_{27}O_3N \cdot HCl$ (389,5) Ber. N 3,59 HCl 9,36
Gef. „ 3,55 „ 9,17.

l-2-Dimethylamino-4,4-diphenylheptanon(5) (XIIIa, 10820)

198 g der d,l-Base werden in 900 ccm norm. Propylalkohol gelöst und 100,5 g Weinsäure zugegeben. Aus der klaren Lösung kristallisieren nach längerem Stehen, besonders leicht beim Animpfen, 110 g des Tartrats der l-Base aus. Man löst in Wasser, scheidet die Base mit Natronlauge ab und äthert aus. Nach dem Abdestillieren des Äthers wird der basische Rückstand mit alkoholischer Salzsäure in das Chlorhydrat übergeführt. Nach dem Umlösen aus Alkohol 1:4 erhält man 55 g Chlorhydrat vom Schmp. 241° u. $[\alpha]_D^{20} = -150°$.

Ester

γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureäthylester (XIV, 9496)

Zu 46 g Natrium (in Pulver- oder Drahtform) in 300 ccm Benzol läßt man unter Rühren eine Mischung von 97 g Diäthylacetonitril und 112 g Chlorbenzol so zutropfen, daß sich die Temperatur bei 35—40° hält. Nach etwa 5 Stunden ist die Reaktion beendet. Dann werden 180 g Diphenylessigester eingetragen und dabei die Temperatur durch Kühlen auf etwa 40° gehalten. Man rührt einige Stunden und erwärmt schließlich noch eine halbe Stunde auf 60°, kühlt dann wieder auf 10—20° ab, läßt nun 110 g Piperidinoäthylchlorid eintropfen, wobei die Temperatur 40° nicht übersteigen soll. Nach 2 Stunden ist die Reaktion beendet, dann wird noch 1 Stunde unter Rückfluß

gekocht. Nach der üblichen Aufarbeitung erhält man 212 g Ester (XIV) vom Sdp.$_9$ 235—240°. Das Chlorhydrat schmilzt bei 176—177°.

$C_{23}H_{29}O_2N \cdot HCl$ (387,5) Ber. N 3,62 HCl 9,40
Gef. „ 3,77 „ 10,0.

Verwendet man an Stelle von Piperidinoäthylchlorid Piperidinopropylchlorid, so erhält man *δ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäureäthylester-HCl* (10061) Schmp. 67 bis 69°.

$C_{24}H_{31}O_2N \cdot HCl + 1\ H_2O$ (419,5) Ber. HCl 8,70 Gef. HCl 8,64.

γ-Morpholino-α,α-diphenylvaleriansäureäthylester-HCl (10275)
Schmp. 182—183° (Zers.)

$C_{23}H_{29}O_3N \cdot HCl + 1\ H_2O$ (403,5) Ber. N 3,47 HCl 9,04
Gef. „ 3,51; 3,45 „ 9,04.

γ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäureäthylester (10334) Sdp.$_2$ 195—197°
$C_{24}H_{31}O_2N$ (365) Ber. N 3,83 Gef. N 4,06.

γ-(2-Methyl-5-äthylpiperidino)-α,α-diphenylbuttersäureäthylester (10455) Sdp.$_8$ 243 bis 245°

$C_{26}H_{35}O_2N$ (393) Ber. C 79,39 H 8,91 N 3,56
Gef. „ 79,24; 79,08 „ 9,04; 9,12 „ 3,52.

Das angewandte *2-Methyl-5-äthyl-piperidinoäthylchlorid* wurde folgendermaßen dargestellt: 100 g 2-Methyl-5-äthylpiperidin wurden mit 90 g konz. Natronlauge gemischt und bei 35° unter Rühren 63,5 g Äthylenchlorhydrin in 160 ccm H_2O langsam einlaufen gelassen. Dann werden noch 250 ccm konz. Natronlauge zugegeben, mit Benzol ausgezogen, Benzol abdestilliert, Rückstand i. V. destilliert. Die Alkoholbase siedet bei 107—108°/8 mm. Die Chlorbase (aus dem Alkohol und Thionylchlorid dargestellt) siedet bei 7 mm bei 97—98°.

γ-Piperidino-α-phenyl-α-cyclohexylbuttersäureäthylester und *γ-Piperidino-α,α-dicyclohexylbuttersäureäthylester* (10543 u. 10544)

30 g γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureäthylester werden in 300 ccm Eisessig gelöst, 1,5 g Platinoxyd zugegeben und bei 50° mit Wasserstoff geschüttelt. Nachdem 5,2 l Wasserstoff aufgenommen sind, wird der Versuch unterbrochen, ¼ der Lösung herausgenommen und der Eisessig i. V. abdestilliert. Der Rückstand wird in 40 ccm Aceton gelöst und mit Äther bis zur eben beginnenden Trübung versetzt. Die ausgeschiedene kristalline Abscheidung wird nach einigen Stunden abgesaugt, mit Aceton-Äther gewaschen und nochmals aus 200 ccm Essigester umkristallisiert. Erhalten 4 g Chlorhydrat, Schmp. 167—168°.

$C_{23}H_{35}O_2N \cdot HCl$ (393,5) Ber. C 70.14 H 9,16 N 3,56
Gef. „ 69,85 „ 9,34 „ 3,56.

Die restlichen ¾ der obigen Eisessiglösung werden bei 50° mit Wasserstoff weiter geschüttelt. Nach etwa 30 Stunden waren 4 l Wasserstoff aufgenommen und die Reaktion war zum Stillstand gekommen. Man saugt vom Katalysator ab, destilliert den Eisessig i. V. ab und nimmt den Rückstand in 50 ccm Alkohol auf. Die klare Lösung wird mit 400 ccm Äther versetzt, daraus kristallisieren nach einigen Stunden 17 g des Chlorhydrats der durchhydrierten Base. Nach wiederholtem Umlösen zeigt es den Schmp. 175°.

$C_{23}H_{41}O_2N \cdot HCl$ (399,5) Ber. C 69,08 H 10,52 N 3,51
Gef. „ 68,60 „ 10,44 „ 3,50.

Morpholinoäthyl-fluorencarbonsäureäthylester-HCl

2,8 g Na, 7 g Chlorbenzol, 5,6 g Diäthylacetonitril und 100 ccm Benzol werden wie oben beschrieben umgesetzt, 12 g Fluoren-carbonsäureester zugesetzt, und 7,3 g

Morpholinoäthylchlorid zufließen gelassen. Bei der Aufarbeitung erhält man 7,2 g des Esters vom $Sdp._4$ 227—230°. Das Chlorhydrat mit Alkohol und Äther (1:6) umgelöst, zeigt den Schmp. 185—186°.

$C_{22}H_{25}O_3N \cdot HCl$ (387,5) Ber. N 3,62 HCl 9,42
Gef. „ 3,57; 3,64 „ 9,44.

β-Dimethylamino-α,α-diphenylpropionsäureäthylester (XIX, 11565)

210 g Chlorbenzol, 290 g Diphenylacetonitril, 700 ccm Benzol u. 95 g Natrium werden wie oben beschrieben bei 35—40° umgesetzt, darnach unter Eiskühlung 210 g Chlorkohlensäureäthylester eingetropft und dann noch 1 Stunde auf 80° erwärmt. Die Aufarbeitung ergibt 230 g *Diphenylcyanessigsäureäthylester*, Schmp. 58—59° (aus Methanol).

$C_{17}H_{15}O_2N$ (265) Ber. C 76,95 H 5,69 N 5,28
Gef. „ 76,80; 76,99 „ 5,68; 5,78 „ 5,44; 5,37.

66,2 g Diphenylcyanessigester in 250 ccm Methanol werden mit Raney-Nickel bei 105—110° und 80 atü mit Wasserstoff hydriert. Es werden erhalten 62 g *β-Amino-α,α-diphenylpropionsäureäthylester*.

53,8 g dieser Verbindung, 44 ccm 30proz. Formalin und 43 ccm 85proz. Ameisensäure werden bis zur Beendigung der Kohlensäureentwicklung auf dem Dampfbad erwärmt, dann wird mit Ammoniak alkalisch gestellt, die Base in Äther aufgenommen, getrocknet, filtriert, der Äther abdestilliert und der Rückstand destilliert. Das Reaktionsprodukt (XXII) zeigt den $Sdp._{45}$ 140—144°, Schmp. 48—49°.

$C_{19}H_{23}O_2N$ (297) Ber. C 76,72 H 7,84 N 4,71
Gef. „ 76,68; 76,57 „ 7,81; 7,85 „ 5,15; 5,12.

Das *Chlorhydrat* schmilzt bei 117—120°.

$C_{19}H_{23}O_2N \cdot HCl$ (333,5) Ber. HCl 10,64 Gef. HCl 10,75.

Amide

γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureamid (XVI, 9980)

a) 17,5 g γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäurenitril werden mit einer Lösung von 35 g Ätzkali in 2 ccm Wasser und 70 ccm Alkohol 6 Stunden unter Rückfluß auf dem Drahtnetz gekocht. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser versetzt, von dem abgeschiedenen weißen Kristallbrei abgesaugt und mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion gewaschen. Aus Alkohol umkristallisiert, schmilzt das Amid bei 186—187°. Erhalten 15 g. Das Chlorhydrat schmilzt bei 220°.

$C_{21}H_{26}ON_2 \cdot HCl$ (358,5) Ber. N 7,81 HCl 10,18
Gef. „ 7,60 „ 10,02.

b) 30 g γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäurechloridchlorhydrat werden in 120 ccm Wasser gelöst, in 200 ccm konz. Ammoniak eingegossen, der erhaltene weiße Niederschlag abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach dem Umlösen aus Alkohol erhält man 23,5 g *γ-Piperidino-α,α-diphenylbuttersäureamid*, Schmp. 186—187°, *γ-Dimethylamino-α,α-diphenylbuttersäureamid-HCl* (XV, 10804) Schmp. 169—170°.

$C_{18}H_{22}ON_2 \cdot HCl$ (318,5) Ber. N 8,80 HCl 11,45
Gef. „ 8,87; 8,65 „ 11,40.

δ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäureamid (10131, XVII)

5 g Natriumamid, 19,3 g Diphenylacetonitril, 100 ccm Benzol und 41 g Piperidinopropylbromid werden einige Stunden unter Rückfluß gekocht. Die Aufarbeitung ergibt 5,5 g *δ-Piperidino-α,α-diphenylvaleriansäurenitril* ($Sdp._7$ 234—235°); diese werden zu 7 g Ätzkali in 30 ccm Alkohol gegeben und 25 Stunden unter Rückfluß gekocht. Man erhält 4 g *Amid*, $Sdp._7$ 243—245°. Chlorhydrat aus abs. Alkohol umgelöst, Schmp. 175—176°.

$C_{22}H_{28}ON_2 \cdot HCl$ (372,5) Ber. HCl 9,39 Gef. HCl 10,06.

Pharmakologische Tabellen

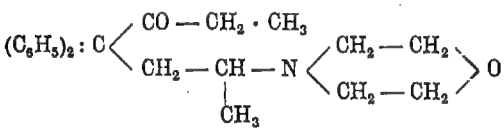
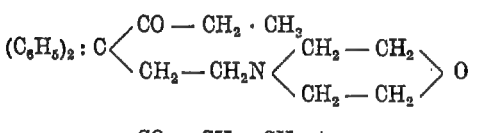
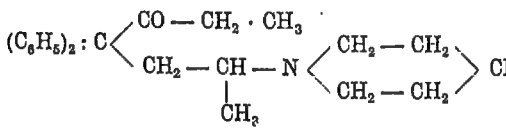
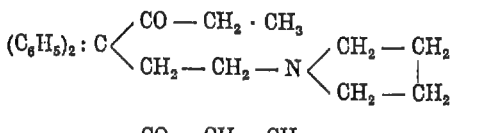
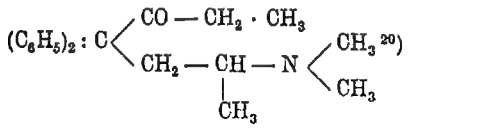
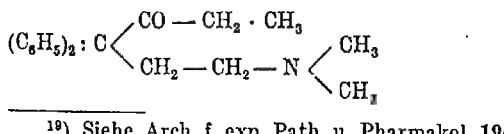
Die spasmolytische und analgetische Wirkung der Verbindungen wurde von Dr. O. Schaumann gemäß der beim Dolantin von ihm befolgten Methodik geprüft[19]). Die gefundenen Werte beziehen sich in allen Fällen auf jeweils Dolantin = 1,

L = Lentin, Ba = Bariumchlorid, Hi = Histamin, Analg = Analgesie.

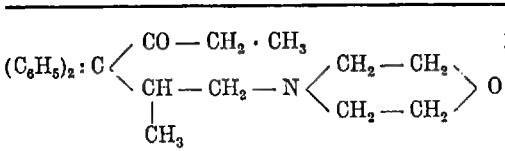
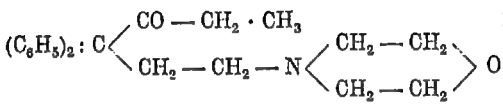
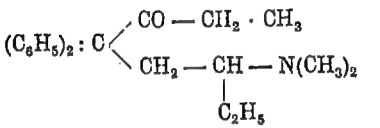
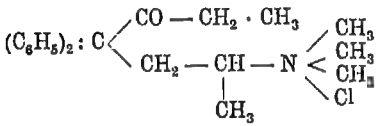
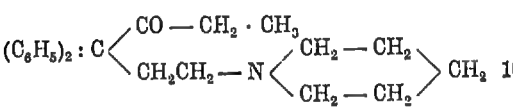
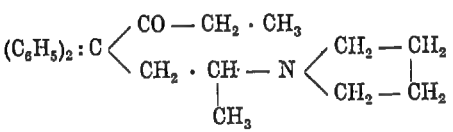
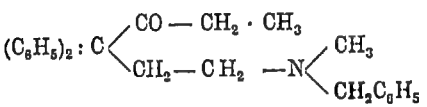
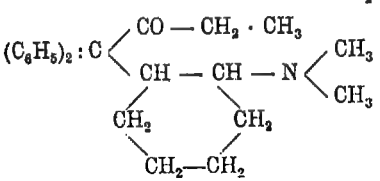
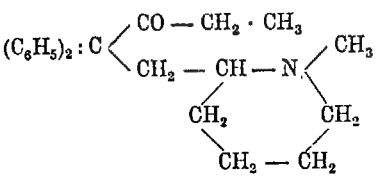
Die Verbindungen wurden stets in Form ihrer Salze, meist der Chlorhydrate, geprüft.

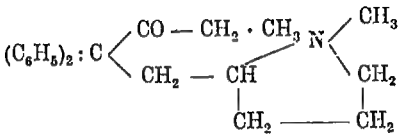
Tabelle I: Ketone

A. Variation der basischen Seitenkette

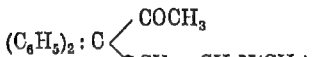
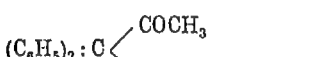
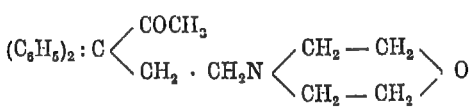
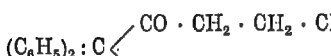
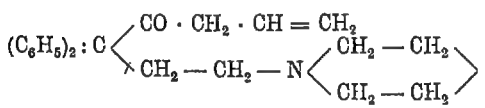
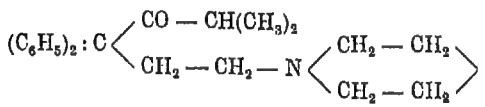
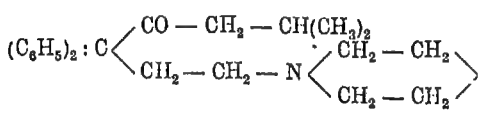
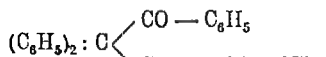
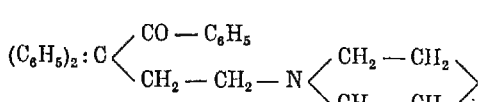
		Spasmolyse			Analg.
		L	Ba	Hi	
	10600	1/6	5	1/5	10
	10581	1/10	1	1/20	ca. 5
	10805	1/2	2	1/3	7
	10636	3/2	5/2	3/4	2
	10820 (Va)	1/2	1	1/5	5—10
	10582	1/3	1	1/2	3

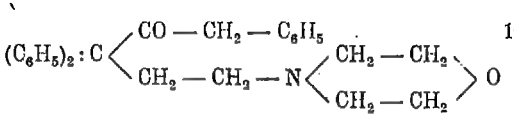
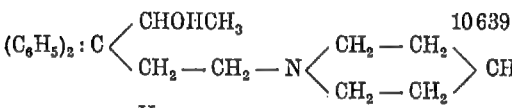
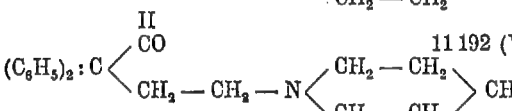
[19]) Siehe Arch. f. exp. Path. u. Pharmakol. **196**, 109 (1940).
[20]) Linksverbindung analgetisch etwa 1½mal stärker.

		Spasmolyse			Analg.
		L	Ba	Hi	
	10704	1/1/15	5/3	1/15	3/4—1
	10581	1/10	1	1/20	5
	11341	1/4	4	1/10	0
	11355	1/2	1/2	1/8	0
	10495	2	3	1/6	3
	10819	1	10	1/2	5—10
	10691	1/10	2	1/5	0
	10965	5/2	5/3	1/8	0
	11288	2/3	2	1/4	0

		Spasmolyse L	Ba	Hi	Analg.
	11381	1	3/2	1/3	0

B. Variation der Ketonseitenkette

	10516	2	5	1	1/2
	10520	6	2	1/6	1/4—1/2
	10633	1/20	1/3	1/20	1/2—3/4
	10504	1/2	3	1	1/2—1/4
	11183	3/4	1/2	1/6	2—3
	11151	1	3	1	1/4
	11156	2/3	1	1/5	2
	10505	1/2	4	1/2	< 1/5
	10515	1/15	1	1/6	< 1/5

		Spasmolyse L	Ba	Hi	Analg.
	10657	1/4	1	1/20	0
	10639 (VI)	1/4	1/5	1/25	0
	11192 (VIII)	2/3	1	1	3

C. Variation am Zentral-C-Atom

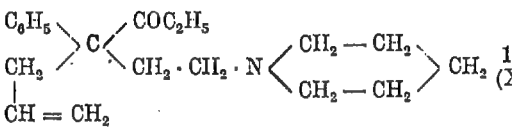
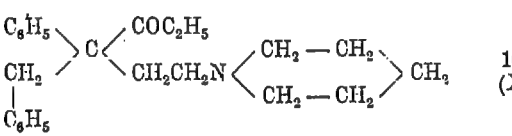
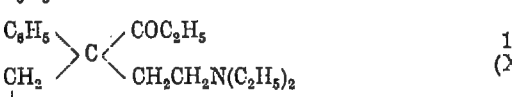
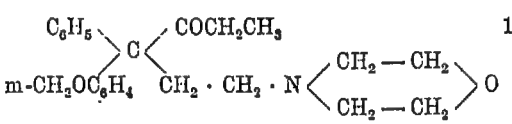
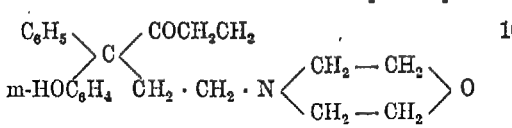
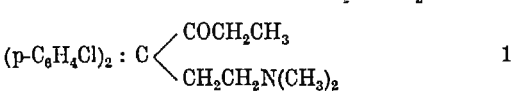
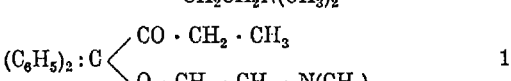
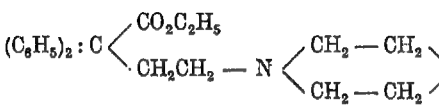
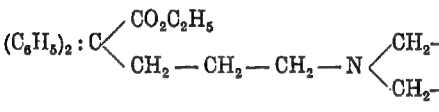
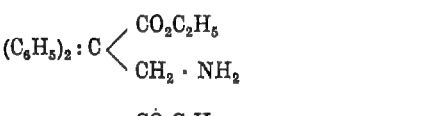
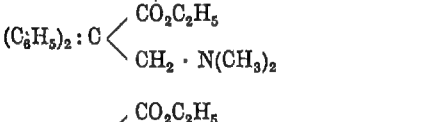
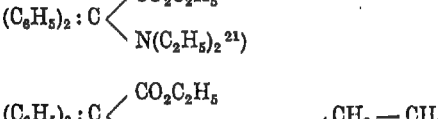
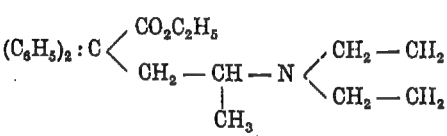
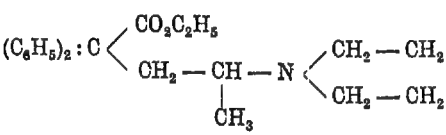
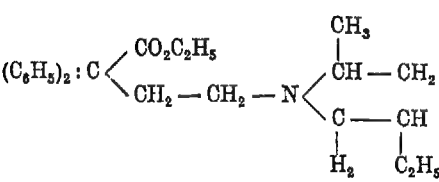
	11354 (XIIa)	1/2	1/2	1/10	0
	10649 (XIIb	2/5	2	1/3	0
	11391 (XIIc)	1/5	2	2/3	0
	10800	1/2	1/3	1/30	<1/5
	10802 (XI)	1/4	1/3	1/30	<1/5
	11033	1/4	2	1/6	0
	11245	1/4	3/2	1/8	0

Tabelle II: Ester

A. Variation der basischen Seitenkette

		Spasmolyse L	Spasmolyse Ba	Spasmolyse Hi	Analg.
	9496 (XIV)	1	3	1	1/2
	10061	1/2	2	1/5	<1/4
	10496	1/6	2	1/10	<1/5
	11565	1/13	3/8	1/10	<1/5
	9773	—	—	—	—
	10275	1/10	5/3	1/25	<1/10
	10334	4	1	1/3	1/5
	10455	1/2	schädigt	1	0

[21]) Das Chlorhydrat wurde wegen seiner Schwerlöslichkeit in Wasser in Tributylphosphat geprüft.

B. Variation des Esterradikals

		Spasmolyse L	Ba	Hi	Analg.
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2CH_3}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	9979	$1^1/_2$	$^1/_2$	1	2
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2CH(CH_3)_2}_{CH_2CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	9525	$^3/_4$	5	$^3/_4$	1
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2CH_2CH(CH_3)_2}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>O}$	9608	$^1/_3$	$^1/_2$	1	$<^1/_6$
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2C_6H_5}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	10487	$^1/_2$	$^1/_3$	$^1/_2$	$<^1/_5$
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2(CH_2)_3\cdot CH_3}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	10485	$^1/_3$	5	$^1/_5$	$<^1/_5$
$(C_6H_5)_2:C<^{CO_2-CH_2\cdot C_6H_5}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	10370	$^1/_6$	$^1/_6$	$^1/_6$	$^1/_2$

C. Variation am Zentral-C-Atom

$H_4C_6>C(H_4C_6)<^{CO_2C_2H_5}_{CH_2\cdot CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>O}$	9604	$^1/_{30}$	1	$^1/_{15}$	$<^1/_2$
$H_4C_6>C(H_4C_6)<^{CO_2C_2H_5}_{CH_2\cdot CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	9599	$^1/_2$	5	$^1/_5$	0
$C_6H_5>C(C_6H_{11})<^{CO_2C_2H_5}_{CH_2-CH_2-N<^{CH_2-CH_2}_{CH_2-CH_2}>CH_2}$	10543	$^3/_2$	5	$^2/_5$	$<^1/_5$

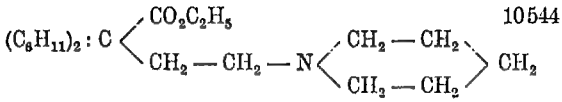
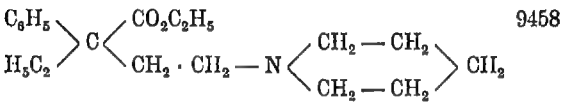
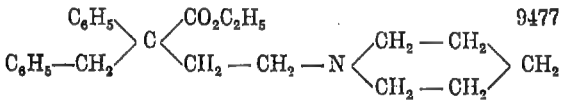
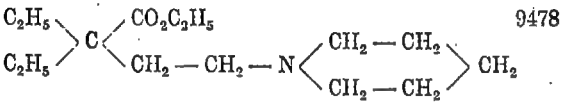
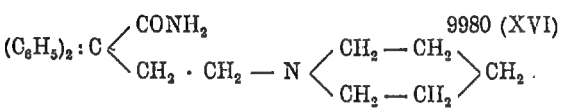
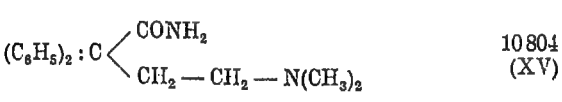
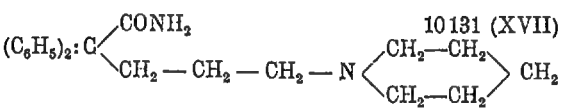
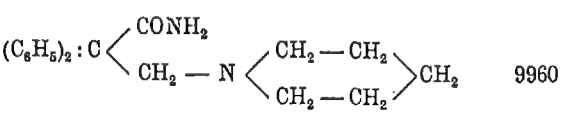
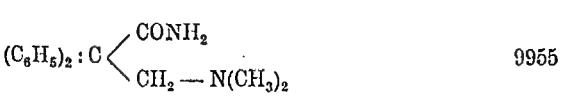
		Spasmolyse			Analg.
		L	Ba	Hi	
	10544	1/2	5/3	1/7	<1/5
	9458	1/2	1	1/16	0
	9477	1/7	6	1/10	0
	9478	1/3	3/4	1/10	0

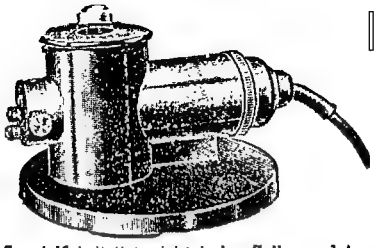
Tabelle III: Amide

	9980 (XVI)	200—400	1	1/10	0
	10804 (XV)	30	1/2	1/20	<1/5
	10131 (XVII)	100	2	1/3	0
	9960	50	1	1 1/2	0
	9955	2	1/2	1/20	0

(Abgeschlossen am 19. Oktober 1948)

Verantwortlich für die Redaktion: Prof. Dr. H. Wieland Starnberg Obb.; für den Anzeigenteil: Anton Burger, Berlin-Tempelhof, Attilastraße 16. — Verlag Chemie, GmbH. (Lizenz US. W. 1113 Eduard Kreuzhage), Weinheim/Bergstr. und Berlin. Printed in Germany. — Druck: Druckerei G. Braun GmbH., Karlsruhe. Auflage 3500.

Lichtelektrisches Becherglas-Kolorimeter



mit Reagenzglas-Einsatz
kurzfristig lieferbar
ebenso Photoelemente, Luxmeter und Ultra-Relais

DR. B. LANGE

Spezialfabrik lichtelektrischer Zellen und Apparate · Berlin-Zehlendorf, Hermannstr. 14-18 · Tel. 848122

Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-Einrichtungen

Düsseldorf

Sondergebiete:

1. elektrische Öfen, Trockenschränke, Potentiometer
2. glastechnische Apparate
3. Laboratoriums-Möbel in Holz- u. Eisenkonstruktion

Emulgiermaschine

„ZENITH"

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis 600 Lit. Stundenleistung zur Herstellung von Seifen, Salben, Linimenten, Aromen und Weichkrem sowie Lebertran- u. Lack-Emulsionen usw.

Einfache Handhabung
Hohe Qualität

Wilhelm Steinhorst
Leipzig N 22
Ehrensteinstr. 49

Reagenzien und Chemikalien

(pro analysi)

Wissenschaftliche Präparate für Forschung, Therapie, Mikrobiologie · Synthetische Aroma und Riechstoffe, Synthetische Naturstoffe · Ausführung von Spezialaufträgen · Entwicklung von Verfahren

Institut für chemische Synthese GmbH., Düsseldorf
Jahnstraße 44 — Geschäftsstelle: Hildenerstraße 67

Soeben ist erschienen:

KARL DAEVES · AUGUST BECKEL

GROSSZAHL-FORSCHUNG u. HÄUFIGKEITS-ANALYSE

Ein Leitfaden · Umfang 68 Seiten, mit 17 Abbildungen, 1948, DM 3.20

Aus dem Vorwort:

Es ist eine irrige Auffassung, daß zur Auswertung jedes größeren Beobachtungsmaterials grundlegende Kenntnisse der theoretischen Statistik erforderlich seien. Auch auf diesem Gebiet ist heute eine Arbeitsteilung angebracht, die dem Mathematiker den Ausbau der Grundlagen zuweist, dem praktischen Forscher auf anderen Gebieten aber in den daraus gewonnenen Vorfahren und Koordinaten-Netzen die Hilfsmittel bereitstellt, mit denen er ohne jeweils wiederholte komplizierte Rechnungen seine Beobachtungen auswerten kann. Denn die eigentlichen zweckdienlichen Schlußfolgerungen wird besser der Spezialist des Beobachtungsgebiets, und nicht der reine Mathematiker ziehen können. Je einfacher bei gebotener Zuverlässigkeit das Auswertungs-Verfahren, je vollständiger und klarer es in jedem Augenblick der Auswertung die Übersicht gewährt, um so höher ist sein Aufschlußwert.

Wenn diese Schrift dazu beitragen kann, weiteren Kreisen die Auswertung von Beobachtungen, wie sie unter den komplexen Bedingungen in der Natur, der Technik und im Leben anfallen, zu erleichtern und fruchtbarer zu gestalten, so ist ihr Zweck erfüllt.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung oder vom

VERLAG CHEMIE, G. m. b. H.

Weinheim/Bergstr. und Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

Soeben ist erschienen:

JACOB BERZELIUS

(1779—1848)

REISEERINNERUNGEN AUS DEUTSCHLAND

88 Seiten Kl. 8°, mit einem Bild
1948, Kart. DM 2.—

Der schwedische Chemiker Johann Jacob Freiherr von Berzelius, 1779—1848, wurde von den Fachgenossen seiner Zeit als Begründer der modernen europäischen Chemie gefeiert.

Seine Reiseerinnerungen, ursprünglich nicht zur Veröffentlichung bestimmt, zeigen uns den großen Forscher als behaglichen Plauderer, bringen uns also den Menschen Berzelius nahe. Gleichzeitig werden zahlreiche kulturhistorisch höchst interessante Schlaglichter auf die deutschen Verhältnisse im ersten Drittel des 19. Jahrhunderts geworfen, so daß dieses hübsch ausgestattete Büchlein auch für jeden Nichtchemiker eine ebenso unterhaltsame wie anregende Lektüre bildet.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung oder vom

VERLAG CHEMIE, G. m. b. H.

(17a) Weinheim/Bergstr., Hauptstr. 127
(1) Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

Soeben ist erschienen:

Allgemeines deutsches

Gebührenverzeichnis

für Chemiker

Nachdruck der 8. Auflage von 1943
Umfang 116 Seiten, Kart. DM 6.50

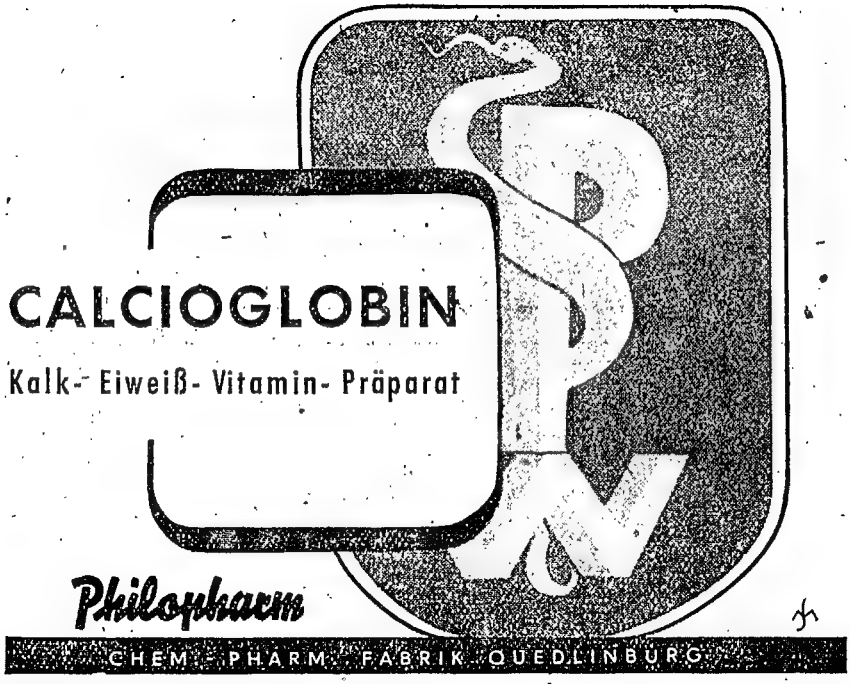
Die starke Nachfrage nach dem „Allgemeinen Deutschen Gebührenverzeichnis für Chemiker" veranlaßte den Verlag im Einvernehmen mit den „Gesellschaften Deutscher Chemiker" zu einem Nachdruck der 1943 erschienenen 8. Auflage.

Eine Neubearbeitung war im Hinblick auf die zeitbedingten Verhältnisse noch nicht möglich, jedoch hat die Fachgruppe „Freiberufliche Chemiker" der „Gesellschaft Deutscher Chemiker" auf der GDCh-Hauptversammlung in Hannover am 3. September 1948 festgestellt, daß ein Faktor von 1,4 für die in Ansatz gebrachten Mindestgebühren unter Berücksichtigung der derzeitigen schwierigen Verhältnisse angemessen ist.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung oder vom

VERLAG CHEMIE, G. m. b. H.

(17a) Weinheim / Bergstraße und
(1) Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89



Lieferbar ist:

L. und A. Kofler

MIKRO-METHODEN

zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische

205 Seiten mit 109 Abbildungen und zahlreichen Tabellen
1945 Gebunden DM 14.-

Das vorliegende Buch stellt eine Erweiterung der vergriffenen Monographie von L. Kofler, „Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Substanzen" dar. (Beiheft Nr. 46 z. d. Ztschr. des VDCh. 1942.) Die Erweiterung betrifft, abgesehen von den quantitativen Analysen von Gemischen, vor allem die von A. Kofler bearbeiteten Abschnitte über Polymorphie, Isomorphie, thermische Analyse, Dreistoffsysteme, Quasieutektische Synkristallisation und flüssige Kristalle.

Zu beziehen durch jede Buchhandlung oder vom

VERLAG CHEMIE, G.M.B.H.

Weinheim/Bergstraße und Berlin-Friedenau, Kaiserallee 89

Chemische Fabrik gegr. 1896 **Dr. Reininghaus**

Chemikalien und Präparate für
Untersuchungslaboratorien und
wissenschaftliche Zwecke

A p o l d a, Postfach 46. — Telefon 11 47.

REAGENZIEN

FEINCHEMIKALIEN

für Industrie und Forschung
Wissenschaftliche Präparate

in anerkannter Reinheit liefert, wenn auch
zur Zeit noch in beschränktem Umfang

Dr. Theodor Schuchardt G.m.b.H.

Chemische Fabrik Görlitz

Zweigniederlassung Ebenhausen
Post Reichertshofen / Obb.
Telegramm-Adresse:
Schuchardt Reichertshofen

Zweigniederlassung Eisenach/Thür.
Gaswerkstraße 30.
Telegramm-Adresse:
Schuchardt Eisenach
Telefon: 1515

Säureschutzbau

HOTTELET & CO. K.G.

BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPFAD 5 · FERNRUF 731429

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON

HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

—

BAND 561 · HEFT 2

VERLAG CHEMIE · GMBH WEINHEIM/BERGSTR. · BERLIN

Liebigs Annalen der Chemie · Weinheim/Bergstr. 1948 · Band 561 · Heft 2 · Seiten 87—163

Inhalt

Th. Wagner-Jauregg, Äthylen-rhodanhydrin 87
Wilhelm Franke, Heinrich Rügge und Klaus Gäbelein, Zur Dehydrierung der gesättigten Fettsäuren (Mit 2 Figuren im Text) 98
Karl Winterfeld und Leonard Hugo Bijl, Viscotoxin, ein neuer Inhaltsstoff der Mistel (Viscum album L.) 107
Theodor Wieland, Curt Vogelbach und Hans-Joachim Bielig, Das Verhalten der Aminosäuren gegenüber Natriumchlorit und ihre quantitative Desaminierung mit Hypochlorit (Mit 1 Figur im Text) 116
Hans-Joachim Bielig, Curt Vogelbach und Theodor Wieland, Eine acidimetrische Methode zur Bestimmung von Hypochlorit und ihre Anwendung bei der Analyse von Chloritpräparaten (Mit 2 Figuren im Text) 123
Paul Rabe, Einwirkung von Phosphorbromid auf China-Alkaloide; Umwandlung von China-Alkaloiden in hetero-China-Alkaloide; Erweiterung des Chinuclidin-Ringes und ihre Umkehrung. 132
Paul Rabe, Karl Dussel und Renate Teske-Guttmann, Spaltung der Halogenalkylate von China-Alkaloiden in Äthylenoxyde. 159

Mitarbeiter dieses Heftes: Dr. *Hans-Joachim Bielig*, geb. 14. 1. 1912 Quedlinburg; Prof. Dr. *Wilhelm Franke*, geb. 28. 5. 1903 München; Prof. Dr. *Paul Rabe*, geg. 24. 8. 1869 Hoym (Anhalt); Prof. Dr. *Th. Wagner-Jauregg*, geb. 2. 5. 1903 Wien; Prof. Dr. *Theo Wieland*, geb. 5. 6. 1913 München; Prof. Dr. *Karl Winterfeld*, geb. 17. 12. 1891 Köln.

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrages.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon".

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Bei der Wiedergabe der Analysen ist im allgemeinen von der Ausführung der Belegzahlen Abstand zu nehmen.

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg, Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— DM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1947 by Verlag Chemie, GmbH., (Lizenz US-W-1113 Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. und Berlin — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.

Ausgegeben am 15. Dezember 1948

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN DER CHEMIE

561. Band

Äthylen-rhodanhydrin

Von *Th. Wagner-Jauregg*

(Aus der Chem. Abteilung des Forschungsinstituts für Chemotherapie „Georg-Speyer-Haus" und dem Laboratorium der Deutschen Gesellschaft für Schädlingsbekämpfung m. b. H., Frankfurt a. M.)

(Eingegangen am 7. Juli 1948)

A. Darstellung, chemische Eigenschaften und Umwandlungsprodukte

Der in der Durchgasungspraxis angewandte Gasrestnachweis des Äthylenoxydes mit 40proz. Kaliumrhodanid-Lösung und Phenolphthalein als Indikator nach W. Deckert[1]) beruht auf folgender Reaktion:

$$(CH_2)_2O + KSCN + H_2O = HOCH_2CH_2SCN + KOH.$$

Zur präparativen Darstellung des in der Literatur noch nicht beschriebenen Äthylen-rhodanhydrins eignet sich diese Methode wegen ihrer geringen Ergiebigkeit nicht. Hauptreaktionsprodukt der Umsetzung von Äthylenoxyd mit Rhodaniden ist nämlich *Äthylensulfid*: $(CH_2)_2O + KSCN = (CH_2)_2S + KCNO$. Darauf beruht ein Verfahren der chem. I.G. Farbenindustrie A.G.[2]) zur Herstellung von Alkylensulfiden. Da dabei die auf Kaliumrhodanid bezogene Ausbeute an Äthylensulfid 97 % betragen soll, kann die Nebenreaktion der Bildung von Äthylen-rhodanhydrin nur gering sein. Tatsächlich beobachteten wir unter den angegebenen Reaktionsbedingungen bloß ein Auftreten von KOH im Ausmaße von $\frac{1}{20}$ Äquivalent der angewandten Rhodanidmenge. Wird fortlaufend verd. Säure bis zum Neutralpunkt zugesetzt, dann entsteht insgesamt etwas über ½ Äquivalent Alkali. Das zu erwartende Äthylen-rhodanhydrin konnte dabei aber wegen sekundärer Umwandlungen nicht isoliert werden.

Zu seiner Darstellung hat sich die Einwirkung von freier Rhodanwasserstoffsäure in ätherischer Lösung auf Äthylenoxyd unter den im Versuchsteil angegebenen Bedingungen als geeignet erwiesen:

$$(CH_2)_2O + HSCN = HOCH_2CH_2SCN.$$

Eine direkte Bildung von Äthylensulfid findet in diesem Falle auch nicht in geringem Maße statt; erst bei der später zu beschreibenden Zersetzung des Äthylen-rhodanhydrins tritt Äthylensulfid auf.

[1]) Angew. Ch. 45, 758 (1932).
[2]) DRP 636708 vom 24. IX. 1936.

Äthylen-rhodanhydrin ist eine auch i. V. nicht ganz ohne Zersetzung siedende Flüssigkeit vom Sdp. 160°/12 mm, bzw. 122—128°/0,4 mm. Beim Aufbewahren zerfällt die Verbindung unter Trübung (Polymerisation) und Bildung eines kristallisierten Umwandlungsproduktes, unter Ausstoßung eines sehr übelriechenden Gasgemisches, das Blausäure und Äthylensulfid enthält. Durch Zugabe eines Inhibitors, z. B. Hydrochinon, kann die Umwandlungsreaktion beim rohen, undestillierten Produkt stark verzögert werden. Die Zersetzung von reinem, destilliertem Äthylen-rhodanhydrin wird durch Hydrochinon beschleunigt. Als *Stabilisatoren* wirken hier *Silicagele*, *Iporka* (ein gehärtetes Harnstoffpolymerisat), sowie der bekannte Anionenaustauscher *Wofatit M*. Dieser beseitigt offenbar die Umlagerung katalysierender Hydroxylionen.

Zur Charakterisierung des Aethylen-rhodanhydrins mittels eines kristallisierten Derivates stellen wir durch Umsatz mit Carbaminsäurechlorid in abs. Aether das *β-Rhodanäthylcarbamat* dar. Es läßt sich auch aus dem *β*-Chloräthyl-carbamat von Gattermann[3]) durch Erwärmen mit Kaliumrhodanid in Dioxan gewinnen:

$$HOCH_2CH_2SCN \xrightarrow{H_2NCOCl} H_2N\cdot CO\cdot OCH_2CH_2SCN \xleftarrow{KSCN} H_2N\cdot CO\cdot OCH_2CH_2Cl.$$

Auch *Propylen-rhodanhydrin*, aus Propylenoxyd und HSCN in Äther gewinnbar, läßt sich im Hochvakuum destillieren und zerfällt beim Stehen unter Abspaltung von Propylensulfid und Hinterlassung eines kristallisierten Produktes.

Ein andersartiges Homologes des Äthylen-rhodanhydrins, das *Tetramethylen-rhodanhydrin* entsteht aus Tetramethylen-chlorhydrin mit NaSCN bei 100°. Es ist ein bei 140—150°/0,6 mm siedendes Öl von schwachem Zwiebelgeruch, das eine unvergleichlich viel größere Beständigkeit besitzt als Äthylen-rhodanhydrin. Die höhere Stabilität erklärt sich wohl aus der größeren räumlichen Entfernung des Hydroxyl- und Rhodanrestes in dieser Verbindung sowie den ungünstigeren Voraussetzungen zur Abspaltung eines Alkylensulfides.

Beim Umsatz von Aethylen-chlorhydrin mit Kaliumrhodanid in Dioxan oder Wasser ließ sich kein Aethylen-rhodanhydrin, aber auch nicht dessen weiter unten beschriebenes Zersetzungsprodukt isolieren. Es entstehen allerdings kristallisierbare Verbindungen, deren Konstitution aber noch nicht aufgeklärt werden konnte.

Die *Zersetzung des Äthylen-rhodanhydrins* läßt sich durch dessen langsamen Zerfall in Äthylensulfid und Cyansäure erklären. Sie wird durch Aminoverbindungen, z. B. Cystin oder Aminoäthanol stark beschleunigt. Unter den amorphen Polymerisationsprodukten befinden sich vermutlich vor allem Polyäthylensulfid-ketten, deren Enden mit den Resten der Cyansäure besetzt sind. So konnten geringe Mengen eines Präparates isoliert werden, dessen Stickstoff- und Schwefelgehalt auf die summarischen Formeln $HO(CH_2CH_2S)_7CN$ bzw. $HS(CH_2CH_2S)_3CH_2CH_2O(\cdot CH_2CH_2S)_3CN$ stimmt. Das Auftreten von Blausäure erklärt sich wohl aus dem hydrolytischen Zerfall zunächst gebildeten Rhodanwasserstoffs.

[3]) A. 244, 41 (1888).

Das Hauptumwandlungsprodukt des Äthylen-rhodanhydrins ist aber schön kristallisiert und hat die Summenformel $C_4H_6O_2N_2S$ (I). Man kann sich diese Substanz formell aus einem C_2H_4S-Rest und 2 Molekülen Cyansäure entstanden denken. (Die Synthese der Verbindung aus Äthylensulfid und Cyansäure war nicht möglich.) Als gasförmiges Zersetzungsprodukt tritt ein Mol Äthylensulfid pro 2 Mol Äthylen-rhodanhydrin auf. Die Zersetzungsgleichung lautet demnach:

$$2\ HOCH_2CH_2SCN = C_4H_6O_2N_2S + CH_2 - CH_2$$
$$\qquad\qquad\qquad

Bei *Hydrolyse mit verdünnter Salzsäure* in der Wärme entstehen aus dem „Isocarbamat" neben wenig III hauptsächlich zwei Substanzen: eine vom Schmp. 192 bis 193° und eine weitere vom Schmp. 213° mit der mutmaßlichen Summenformel $C_7H_{13}O_4N_3S_2$. Zwei Mole der Ausgangssubstanz könnten unter Aufnahme von 2 Molen H_2O und Austritt von je ein Mol CO_2 und Ammoniak reagiert haben:

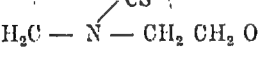
$$2\,C_4H_6O_2N_2S + 2\,H_2O = C_7H_{13}O_4N_3S_2 + CO_2 + NH_3.$$

Es wird angenommen, daß der Substanz die Konstitutionsformel VI eines Disulfids zukommt. Die Neigung zur Bildung eines Disulfides hat die Substanz I mit den Rhodaniden bzw. den Thiocarbaminaten gemeinsam[5]); tatsächlich kann I als substituiertes Thiocarbaminat betrachtet werden. Bei der Entstehung von VI aus I ereignet sich ferner ein Umspringen des vom Schwefel abgetrennten CONHCONH-Restes (nebst seiner teilweisen Verkürzung). Man kann sich die Bildung der Verbindung VI auch so vorstellen, daß primär Verseifung von I zu Allophansäure (VII) und Thioacetaldehyd-hydrat (VIII) erfolgt, die sich sofort im Entstehungszustand zum Thiol IX (isomer mit III) verestern. Die dehydrierende Vereinigung zweier Mole IX zur Verbindung VI erfolgte dann unter gleichzeitiger Abspaltung von je einem Mol CO_2 und Ammoniak.

VI bildet sich aus I in besserer Ausbeute bei der Einwirkung wäßriger *Ferrichloridlösung* oder *salpetriger Säure*. Diese Oxydationsmittel ergeben nebenbei in kleiner Menge auch eine Substanz vom Schmp. 190°—192°. Zum Hauptprodukt wird diese, wenn man mit *Brom*wasser oder *Wasserstoffsuperoxyd* oxydiert. Ihre Analyse ergab kein eindeutiges Resultat. Wohl die gleiche Substanz entsteht auch beim schwachen Erwärmen einer alkoholischen Lösung des „Isocarbamates" mit *Silbernitrat*. Dabei kommt es wohl zunächst zur Bildung eines Ag-Salzes des „Isocarbamats" und die in Freiheit gesetzte Salpetersäure wirkt einerseits hydrolysierend, andererseits oxydierend auf die Spaltprodukte. Dieser Verbindung $C_7H_{13}O_5N_3S_2$ dürfte die Konstitution eines *Allophansäure-carbaminsäureesters des 2,2'-Dioxydiäthyl-2,2'-disulfides* (X) zuzuschreiben sein. Als Nebenprodukt der Umsetzung mit $AgNO_3$ wurde eine in Äther und in verdünnten Laugen lösliche, übel senfölartig riechende Substanz $C_{16}H_{12}O_3N_2S_2$ gefaßt; sie gibt in alkoholischer Lösung deutliche Rotviolettfärbung mit Nitroprussidnatrium. Es könnte ihr die Konstitutionsformel XI zukommen.

Die Formelbilder der Verbindungen VI, X und XI sind mit einer gewissen Unsicherheit behaftet, da sie weder durch Abbau noch Synthese gestützt sind.

Nachtrag bei der Korrektur. Auch P. G. Ssergejew u. Mitarb.[5a]) erhielten Äthylenrhodanhydrin durch Einleiten der berechneten Menge Äthylenoxyd in eine ätherische Lösung von Rhodanwasserstoff bei —5 bis —10°. Bei Aufbewahrung kam es innerhalb einiger Tage zur Zersetzung unter Gasentwicklung (COS?) und Bildung eines kristallisierten Körpers vom Schmp. 168,5°, dem oben beschriebenen „Isocarbamat" entsprechend. Die von dem russischen Autoren angegebene Konstitutionsformel ergibt den gleichen Schwefel- und Stickstoffgehalt wie das oben beschriebene „Isocarbamat". Aus den von uns ermittelten CH-Werten ergibt sich aber die Unrichtigkeit nebenstehender Formel.



B. Insekticide Wirkung[6])

Äthylen-rhodanhydrin ist ein starkes Kontakt-insekticid, was aus den folgenden Tabellen hervorgeht:

[5]) Vgl. dazu Th. Wagner-Jauregg, H. Vonderbank u. Witzel, B., im Druck (1948).

[5a]) Chem. Zbl. 1938 I, 598.

[6]) Die Versuche wurden von Herrn W. Ganter durchgeführt.

Tab. I

Es wurden Filtrierpapierscheiben von 8,5 cm Durchmesser mit den angegebenen Lösungen getränkt, an der Luft getrocknet und in passenden Petrischalen gemeinsam mit je 5 Bettwanzen bei 20° aufbewahrt. + = tot; R = Rückenlage.

nach Std.	1,25% *Gammexan* (in Benzol)	12,5% *DDT* (in Benzol)	5% *Äthylen-rhodanhydrin*[7]) (in Aceton)
1	normal	normal	stark gelähmt
2	deutl. gelähmt	,,	,,
3	,,	,,	,,
4	5 R	,,	,,
20	1 + 4 R	4 R 1 schwer gelähmt	1 + 4 R
28	1 + 4 R	5 R	2 + 3 R
48	2 + 3 R	5 +	5 +

Aus Tab. I ergibt sich, daß die Wirkung im Versuch mit Äthylenrhodanhydrin etwas rascher als beim „Gammexan" (γ-Hexachlor-cyclohexan) und sehr deutlich schneller als beim DDT (α,α-p,p-Dichlor-diphenyl-β,β,β-trichloräthan) einsetzt und daß es letzterem bezüglich endgültigem Abtötungserfolg auch in weniger als der halben Konzentration gleichwertig ist.

Tab. II

Ansätze ähnlich wie in Tab. I, zum Teil Insekten auf Drahtsieb, so daß sie mit dem giftimprägnierten Filtrierpapier nicht direkt in Berührung kamen („*Atemwirkung*"). Temperatur 22°. Je 10 Bettwanzen (W) und 10 Kornkäfer (KK).
n = normal; m = matt; sg = stark gelähmt; b = bewegungslos; R = Rückenlage; + = 100% tot.

Std.		*Gammexan* (1,25% in Benzol)				*DDT* (12,5% in Benzol)				*Gammexan+DDT* (Die beiden Lösg. 1:1)		*Äth.-rhodh.* (5% in Aceton)			
		Kont.-W.		Atem-W.		Kont.-W.		Atem-W.		Kont.-W.		Kont.-W.		Atem-W.	
		W	KK	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK
3		R	R	n	n	n	n	n	n	R	R	b	sg	n	m
24		10		0	70	40	0	0	0	20		100	80	100	0
48	% Abtötung	40	30	80	50	40	10	0	0	40	40	+	90	+	0
72		100	50	100	70	100	10	10	0	100	40	+	90	+	0
96		+	50	+	80	+	30	10	0	+	60	+	100	+	0

Tab. II zeigt zunächst noch einmal die Gegenüberstellung mit Gammexan, DDT und deren Mischung. Die starke Giftigkeit des Äthylenrhodanhydrins für Kornkäfer beruht vollkommen auf Kontaktwirkung, da diese Insekten gegenüber der abgespaltenen Blausäure wenig empfindlich sind. Bei Wanzen tritt zunächst auch nur die Toxizität infolge Berührung in Erscheinung, doch macht sich mit zunehmender Zersetzung die Atemgiftwirkung so stark bemerkbar, daß im Enderfolg bei den Versuchen mit und ohne Sieb kein Unterschied festgestellt werden kann. Die insekticide Wirkung über die Gasphase ist erwartungsgemäß auch

[7]) Undestilliertes Rohprodukt, mit 1% Hydrochinon stabilisiert.

beim Gammexan vorhanden und fehlt beim DDT. Die Vergiftung erfolgte auch hier wieder bei Wanzen, besonders deutlich aber bei Kornkäfern rascher durch Gammexan als durch DDT trotz des angewandten Konzentrationsunterschiedes von 1 : 10.

Daß die Ergebnisse auch bei Anwendung von im Hochvakuum destilliertem Äthylen-rhodanhydrin im wesentlichen gleich sind, zeigt Tab. III (22°).

Tab. III

Tage	3proz. *DDT* (Benzol-Lsg.)		3proz. *Äth.-rhod.-hy.* (Aceton)				3proz. *Äth.-rhod.-hy.* u. 0,03„ Hydrochinon (Aceton)			
			ohne Sieb		Tiere auf Sieb		ohne Sieb		Tiere auf Sieb	
	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK
2	30%+	15%+	100%+	15%+	66%+	0%+	100%+	20%+	88%+	0%+
4	60%+	40%+		15%+	66%+	0%+		15%+	100%+	0%+
5	100%+	80%+		25%+	88%+	0%+		15%+		0%+

Tab. IV[8])

3,5proz. Lösungen in Benzol bzw. Aceton von:

Std.	*Äthylen-rhodanhydrin* stabil. mit				*Äthylen-rhodanhydrin-carbaminsäureester*		*DDT*		Kontrolle ohne Präparat[10])	
	Wofatit M[9])		*Iporka*[9])							
	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK	W	KK
24	100	30	100	45	40	0	0	0	0	0
48	+	30	+	60	50	0	30	50	0	0
72	+	40	+	60	100	5	100	20	0	0
96	+	60	+	65	+	10	+	30	0	0
144	+	80	+	70	+	20	+	45	5	5
nach 14tägiger Aufbewahrung der getränkten Filterscheiben:										
24	100	0	100	0	10	0	60	10	30	0
72	+	0	+	0	90	0	90	30	40	0
96	+	0	+	5	100	0	100	50	50	0
120	+	0	+	20	+	0	+	50	50	0
nach 21tägiger Aufbewahrung:										
24	20		20		0		60		0	
48	20		40		0		60		0	
72	40		40		40		80		25	
120	40		80		100		100		50	

[8]) Die Zahlen bedeuten % Abtötung für 10 Wanzen (W) und 20 Kornkäfer (KK).
[9]) 14 Tage altes Präparat, T = 25°.
[10]) Die in der 1. Serie angegebene Sterblichkeit der unbehandelten Insekten stellt die Norm für die Mehrzahl der durchgeführten Versuche dar. So hohe Sterbeziffern der Kontrollwanzen wie in Serie 2 und 3 wurden nur bei diesem besonderen Tierkollektiv beobachtet.

Der hohen Sofortwirkung des Äthylen-rhodanhydrins steht leider, infolge seiner Zersetzlichkeit, eine nur geringe Dauerwirkung gegenüber. Auch mit Wofatit M oder Iporka stabilisierte Präparate oder der kristallisierte Carbaminsäureester des Äthylen-rhodanhydrins sind in der Verteilung auf Oberflächen nur etwas mehr als 2 Wochen haltbar (Tab. IV).

Äthylrhodanid besitzt starke Atemgiftwirkung, aber keine kontakt-insekticiden Eigenschaften[11]). Zum rein lipophilen Charakter dieser Verbindung gesellt sich durch Einführung einer Oxygruppe eine hydrophile Komponente, die im *Äthylenrhodanhydrin* offenbar günstigere Resorptionsverhältnisse in Bezug auf Berührungsgiftwirkung schafft. Ein höheres Derivat des Äthylenrhodanhydrins, das *Butylcarbitolthiocyanat* $C_4H_9OCH_2CH_2OCH_2CH_2SCN$, ist als „*Lethane*" in den USA ein wichtiges neueres Insekticid geworden. Seine Emulsion bewährte sich z. B. als Spritzmittel gegen die rote Spinne und rote Milbe (1:2400)[12]).

Das kristallisierte Umwandlungsprodukt des Äthylenrhodanhydrins („*Isocarbamat*") zeigt keine Giftigkeit für Wanzen oder Kornkäfer.

Beschreibung der Versuche[13])

Äthylen-rhodanhydrin

75 g reines Rhodanammonium oder die äquivalente Menge Alkalirhodanid werden in 300 ccm Wasser gelöst; die noch kalte Lösung überschichtet man im Scheidetrichter mit 300 ccm Äther und säuert unter Eiskühlung und Umschütteln portionsweise mit konz. Phosphorsäure an. Die infolge Eisenspuren dunkelbraunrot gefärbte ätherische Schicht wird durch ein Faltenfilter in einen mit Rückflußkühler versehenen Rundkolben, der durch Einstellen in Eis gekühlt ist, abgegossen. Nun setzt man 25 g eisgekühltes Äthylenoxyd zu. Sollte nicht von selbst Aufkochen erfolgen, so wird die Umsetzung durch schwaches Erwärmen eingeleitet; allmählich verschwindet die Farbe des Reaktionsgemisches durch Verbrauch der Rhodanwasserstoffsäure. Aus dem über Natriumsulfat getrockneten Reaktionsgemisch wird Äther und Äthylenoxyd im Wasserbad abdestilliert, nachdem vorher zur Stabilisierung 0,5 g Hydrochinon zugesetzt wurden. Weder geruchlich noch auf Grund des Sdp. läßt sich Äthylensulfid feststellen. Das Destillat ist für weitere Ansätze verwendbar. Der Destillationsrückstand wird im Hochvakuum fraktioniert, wobei maximal 17,5 g als klares, farbloses, fast geruchloses, mit Wasser mischbares Öl übergeht. Sdp. 121—123°/0,3 mm.

C_3H_5ONS(103) Ber. N 13,59 Gef. N 13,76; 13,49 (Kjeldahl).[14])

Es hinterbleibt ein brauner, öliger Destillationsrückstand, löslich in Methanol, unlöslich in Benzol, Aceton oder Äther.

Beim Aufbewahren trübt sich nicht destilliertes Äthylenrhodanhydrin rasch, mit Hydrochinon versetztes nach längerem Stehen und scheidet, unter Abspaltung

[11]) Vgl. Th. Wagner-Jauregg, Angew. Chemie, im Druck.
[12]) J. econ. Entomol. 29, 666 (1936).
[13]) Sämtliche Schmelzpunkte unkorrigiert im *Berl*block. Zur Analyse wurden alle Substanzen, die über 120° schmolzen, bei 100° i. V. über P_2O_5 getrocknet.
[14]) Die Stickstoffbestimmung nach Dumas ergab um etwa 5% zu tiefe Werte.

von Blausäure und Äthylensulfid, Kristalle und amorphe Flocken ab. Werden diese abzentrifugiert, mit Äther gewaschen und mit 2n-NaOH erhitzt, dann destilliert rohes Äthylensulfid mit einem Siedepunkt von 40—52° über. Unter diesem sammelt sich eine wäßrige Phase an, die bald weiße, amorphe Flocken ausscheidet.

Stabilisierungsversuche. Proben destillierten Äthylen-rhodanhydrins wurden mit wasserfreier Oxalsäure, Natriumsulfit, Silberpulver, Silicagel versetzt. Nur letzteres scheint eine gewisse Verzögerung der Zersetzung zu bewirken, Oxalsäure beschleunigt diese deutlich. Auch Hydrochinon, Cholesterin, Cystin und Aminoäthanol sind für das destillierte Äthylenrhodanid keine Stabilisatoren, sondern begünstigen dessen Umwandlung; Cystin und Aminoäthanol sehr deutlich.

Zur Haltbarmachung des Äthylenrhodanhydrins erwies sich der Anionenaustauscher *Wofatit M* der Farbenfabrik Wolfen geeignet. Wir fanden es zweckmäßig, schon das Rohprodukt vor der Hochvakuumdestillation durch ein mit *Wofatit M* gefülltes Röhrchen zu filtrieren. Auch der Kunststoff *Iporka* der Badischen Anilin & Soda-Fabrik Ludwigshafen a. Rh. ist ein guter Stabilisator. Zwei Proben, die 14 Tage lang bei Zimmertemperatur im geschlossenen Gefäß über Wofatit M bzw. Iporka aufbewahrt wurden, zeigten bei der Prüfung an Insekten nach dieser Zeit volle Wirkung; diese erhielt sich auf den damit getränkten Filterpapieren 2 Wochen lang und zeigte erst nach der dritten Woche eine deutliche Abschwächung (Tab. IV).

β-Rhodanäthylcarbamat

a) Aus β-Chloräthylcarbamat: 6,2 g des nach Gattermann[15]) aus Äthylenchlorhydrin und Harnstoffchlorid dargestellten Präparates werden mit 9,7 g KSCN in 50 ccm trockenem Dioxan 5 Stunden lang unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten fällt man durch Zugabe von abs. Äther das gebildete KCl aus und verdampft i. V. die beiden Lösungsmittel, wobei ein bald erstarrendes Öl hinterbleibt. Aus dessen Lösung in heißem Wasser schied sich beim Erkalten zunächst wenig einer halogenhaltigen Substanz vom Schmp. 173—176° ab. Aus der Mutterlauge fiel nach einigem Stehen das Hauptumsetzungsprodukt. Nach nochmaliger Umkristallisation aus heißem Wasser schmolz dieses bei 64—67°.

$C_4H_6O_2N_2S$(146) Ber. S 21,92 Gef. S 21,62; 21,37.

b) Aus Äthylenrhodanhydrin. Die Lösung in abs. Äther wird unter Kühlung mit Kältemischung mit äther. H_2NCOCl-Lösung versetzt. Steht über Nacht bei Zimmertemperatur. Abgeschiedene Kristalle abgesaugt, mit Äther und mit etwas Wasser gewaschen. 2 mal aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 65—69°. Mischschmp. mit Produkt nach Darst. a: 63—67°.

Tetramethylen-rhodanhydrin

27 g Tetramethylen-chlorhydrin (Darstellung aus Tetrahydrofuran nach D. Starr u. R. M. Hixon[16]) und 20 g Natriumrhodanid, fein gepulvert, wurden in einem mit Steigrohr versehenen Rundkolben 5 Stunden lang am Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten mit abs. Äther versetzt, filtriert und Lösung destilliert. Siedepunkt 140 bis 150°, 0,6 mm. Destillat über Wofatit M filtriert und nochmals im Hochvakuum destilliert. Öl von schwachem Zwiebelgeruch.

C_5H_9ONS(131,1) Ber. S 24,43 Gef. S 24,13; 23,76.

„*Isocarbamat*" (I)

Äthylen-rhodanhydrin wird unter Zusatz von einigen Tropfen Aminoäthanol und etwas Wasser bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Unter Abspaltung von Äthylensulfid erfolgt die Abscheidung von Kristallen. Erhitzen beschleunigt die

[15]) A. **244**, 41 (1888).
[16]) Am. chem. Soc. **56**, 1595 (1934).

Reaktion, ergibt aber schlechtere Ausbeuten und liefert ein weniger reines Produkt. Man kristallisiert aus Dioxan, Wasser oder besser aus Alkohol um. Schmp. 160—162° (u. Zers. und Ausscheidung von Polymerisationsprodukten, die auch bei 360° noch nicht schmelzen). Schwerer löslich in heißem Aceton oder Benzol, sehr schwer in Methylenchlorid oder Essigester, erscheint aber aus letzterem in besonders reiner Form vom Schmp. 166—168° (u. Zers.). Aus Dioxan oder Aceton kristallisiert die Substanz in stumpfen Rhomben, aus Essigester oder Benzol in prismatischen Nadeln. Unlöslich in Äther. Unlöslich in kaltem 2n-Na_2CO_3, teilweise löslich in verd. Lauge, mit positiver Natriumnitroprussid-Reaktion (hydrolytische Aufspaltung). Beim Erwärmen der alkalischen Lösung kommt es zur Trübung und Flockenbildung unter Entwicklung eines übelriechenden Gases.

Chromsäureoxydation nach R. Kuhn u. H. Roth[17]).

6,791 mg Sbst; 7,821 mg Sbstz (Schmp. 162°): 1,36 ccm; 1,75 ccm 0,01 n-NaOH

Ber. max. 10,28% (C)CH_3 Gef. 3,0; 3,4%.

$C_4H_6O_2N_2S$(146,15)

Präp. v. Schmp. 162°

Ber.	C 32,87		H 4,14		N 19,17		S 21,94
Gef.	„ 32,97, 32,78		„ 4,53, 4,35		„ 18,59, 18,59		„ 20,09, 21,19

Präp. v. Schmp. 166°

Gef.	C 32,67, 32,52		H 4,63, 4,42		N 18,95, 19,17		S 21,38, 21,50.

Die Abweichungen der Analysenzahlen von den theoret. Werten bei den weniger reinen Präparaten sind wahrscheinlich durch geringe Beimengungen von Hydratisierungsprodukten (vgl. III) erklärlich.

Beim Umkristallisieren von rohem „Isocarbamat" fällt ein alkohol-unlösliches, unschmelzbares Nebenprodukt in geringerer Menge an. Es ist in verd. Na-OH, nicht in Soda löslich, mit Säure wieder ausfällbar und besitzt ebenfalls die Summenformel eines hydratisierten Isocarbamates:

$C_4H_8O_3N_2S$(164)

Ber.	C 29,28		H 4,88		N 17,07		S 19,52
Gef.	„ 29,63 29,86		„ 4,91, 4,96		„ 16,88, 16,87		„ 20,07, 19,93.

Bleisalz: Dieses fällt beim Versetzen der wäßrigen Lösung des „Isocarbamates" mit Bleiacetat nach einigem Stehen bei Zimmertemperatur oder rascher beim Erwärmen; die weiße Farbe des Niederschlags verwandelt sich nach längerer Zeit in Gelb.

Thermische Zersetzung. Wird das „Isocarbamat" über den Schmelzpunkt auf 170—180° erhitzt, dann destilliert eine stinkende, bald polymerisierende Flüssigkeit ab und es hinterbleibt ein bis 300° unschmelzbarer Rückstand, der in den gebräuchlichen Solventien unlöslich ist. Aus kochender Propionsäure läßt sich die Substanz umlösen.

Gef. N 18,23, 18,29 S 23,87, 23,71.

Spaltung mit Ammoniak. 2,4 g „Isocarbamat" wurden mit 120 ccm conc. Ammoniaklösung auf dem Wasserbad erhitzt, nach ½ Stunde filtriert und das Filtrat zur Trockne verdampft. Kristalle aus wenig Wasser und aus verd. Alkohol umkristallisiert. 1,2 g vom Schmp. 188°, Misch-Schmp. mit Biuret 188°. Mit $CuSO_4$-Lsg. und Lauge Violettfärbung.

$C_2H_5O_2N_3$(103) Ber. N 40,80
Gef. „ 40,15, 40,27, 40,40 (Dumas).

Der in Ammoniak unlösliche Rückstand wurde je 1 mal aus siedender Propionsäure und Eisessig umgelöst und mit CH_3OH gewaschen. Schmp. 135—140°. Unlöslich in NaOH, auch in der Wärme.

Gef. N 3,74, 3,65 S 46,67, 46,93 2N/1S.

[17]) Vgl. Pregl-Roth, 4. Aufl., S. 246. Verlag J. Springer, Berlin 1935.

Poly-äthylensulfid, aus Äthylenbromid und K_2S in alkoholischer Lösung darstellbar, schmilzt bei 145° (Beilstein I, 92) und enthält 53,35% Schwefel.

Saure Hydrolyse. 2,65 g „Isocarbamat" wurden mit 50 ccm Alkohol und 26,5 ccm 2n-HCl auf dem Wasserbad auf ⅓ des Volumens eingeengt und mit Aether ausgeschüttelt. Ätherlösl.: 85 mg geruchlose Substanz vom Schmp. 115—117°, aus verd. Alkohol umkristallisiert 116°. Gibt in alkalischer Lösung SH-Reaktion mit Nitroprussidnatrium; wahrscheinlich mit III identisch.

Beim Eindunsten der mit Äther ausgeschüttelten salzsauren Lösung wurden 450 mg Substanz gewonnen, die aus einem Gemisch Alkohol-Eisessig umkristallisiert bei 192—193° schmolzen. In warmer verd. NaOH löslich, mit Säure daraus wieder fällbar. Vermutlich Substanz X entspr.

Aus der Mutterlauge von oben wurde eine weitere Menge von Kristallen gewonnen, die nach 2maligem Umlösen aus heißem Eisessig bei 213° schmolzen; wahrscheinlich identisch mit VI.

α-Mercapto-äthyl-allophansäure (III)

1,8 g „Isocarbamat" wurden mit 10 ccm dest. H_2O + 5 ccm Eisessig ½ Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Beim Erkalten der Lösung schieden sich reichlich sehr schöne Kristallnadeln in drusigen Aggregaten ab. Nach gutem Trocknen Schmp. 116—119°. Läßt sich auch aus warmem Essigester umkristallisieren. Wenig löslich in kochendem Äther. Gibt in verd. Alkali mit Nitroprussidnatrium Rotviolettfärbung.

$C_4H_8O_3N_2S$ (164,15) Ber. N 17,06
Gef. „ 16,99, 17,19.

Thermische Zersetzung. Kurze Zeit etwas über den Schmelzpunkt erhitzt, spaltet die Substanz III Kohlensäure sowie ein brennbares, übelriechendes Gas (Äthylensulfid) ab und erstarrt beim Abkühlen zu einer bei 113—123° schmelzenden kristallinen Masse. Beim Umlösen aus heißem Tetrahydrofuran oder Dioxan schöne Kristallnädelchen vom Schmp. 124°.

CH_4ON_2 (60) Ber. C 20,00 H 6,66
Gef. „ 20,28, 20,34 „ 6,64, 6,46.

Wurde nochmals aus Alkohol umkristallisiert; Schmp. 129—132°. Keine Schmp.-Depression im Gemisch mit Harnstoff.

Oxydation des „Isocarbamates"

a) *mit Bromwasser.* 1,8 g „Isocarbamat" wurden im Schliffkölbchen portionenweise mit Bromwasser übergossen, bis die Gelbfärbung bestehen blieb. Verbrauch etwa 75 ccm. Beim Stehen über Nacht erfolgte schwache Gasentwicklung. Die reichlich ausgefallenen Kristalle wurden mit Äther gewaschen und schmolzen dann bei 192° (u. Z.). 3—4 mal aus Essigsäure umkristallisiert: schöne Nädelchen, zum Teil zu Büscheln vereinigt; Zers. P. 190°. Löslich in verd. NaOH, unlöslich in Na_2CO_3. Mit Säure wieder ausfällbar; keine Nitroprussidnatrium-Reaktion. Etwas löslich in heißem Wasser. In konz. Schwefelsäure ohne Verfärbung löslich und durch Verdünnen mit Wasser unveränd. ausfällbar.

Beilsteinprobe auf Halogen negativ.

$C_8H_{15}O_7N_3S_2$ (329,2)
Ber. C 29,14 H 4,60 N 12,77 S 19,48
Gef. „ 29,54, 29,43 „ 4,84, 4,87 „ 13,86, 13,94 „ 18,02, 18,11.

Mol.-Gew. nach Rieche in Eisessig Gef. 332.

Eine Substanz dieser Summenformel könnte aus 2 Molekülen α-Mercapto-äthyl-allophansäure (III) durch Anlagerung von H_2O und Austritt von NH_3 entstanden sein.

b) *mit Wasserstoffsuperoxyd.* 1 g „Isocarbamat" wurden mit einer Mischung von 2,5 ccm Eisessig und 5 ccm 30proz. H_2O_2 übergossen, wobei nach Selbsterwärmung und Gasentwicklung nach vorübergehender Lösung Kristalle ausfielen. Es konnten 750 mg vom Schmp. 190° (u. Zers.) isoliert werden, die bei 2maliger Umkristallisation aus Eisessig ihren Schmp. nicht änderten. Keine Depression mit dem vorstehend beschriebenen Brom-Oxydationsprodukt. Löslich in heißem Formamid oder Äthylenglykol, schwer löslich in kochendem Wasser und Dioxan.

Gef. N 15,86; 15,87 S 19,80; 19,56.

Aus der Eisessig-Mutterlauge fiel beim Stehen eine geringe Menge Kristalle vom Zers.P. 200—201° aus.

c) *mit salpetriger Säure:* 1,9 g „Isocarbamat" +1,0 g Natriumnitrit mit wenig Wasser und etwas Eisessig angeteigt und einige Stunden auf dem siedenden Wasserbad erhitzt, bis Gasentwicklung beendet. Niederschlag in n-NaOH unter Erwärmen gelöst und mit verd. H_2SO_4 ausgefällt, plötzlich CO_2-Entwicklung. Aus Eisessig umkristallisiert; Zersp. 197—198°. Noch 2mal aus heißer Essigsäure umgelöst: sägezackige Kristallaggregate; Zersp. konstant bei 204—206°. Unlöslich in Natriumkarbonat und kochendem Wasser.

Gef. N 16,39; 16,39.

Die Substanz ist keine Carbonsäure, da sie nur ganz geringe Mengen Lauge bindet.

d) *mit Ferrichlorid.* 1,5 g „Isocarbamat" in wenig warmem Wasser gelöst und tropfenweise Ferrichloridlösung zugesetzt; nach kurzer Zeit Trübung und Auftreten eines Niederschlages. Dieser wurde aus heißer Essigsäure unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Zersp. 211°. Noch 2mal aus kochendem Eisessig umgelöst. Zersp. 213° (VI). Unlöslich in kochendem Wasser oder Acetylentetrachlorid. In siedendem Alkohol sehr schwer löslich: die gesättigte Lösung gibt mit $AgNO_3$ eine käsige Fällung. Kein Laugeverbrauch bei der Äquivalentgewichtsbestimmung.

$C_7H_{13}O_4N_2S_2$ (267,2)

Ber. C 31,48 H 4,91 N 15,70 S 24,00
Gef. „ 31,67, 31,62 „ 4,65, 4,66 „ 16,44, 16,28 „ 23,29, 23,03.

Beim Eindunsten der Oxydationsmutterlauge fielen 0,5 g einer in Wasser und Alkohol löslichen, in Petroläther und Essigester schwer löslichen Substanz aus, die nach dem Umkristallisieren aus Essigester-Alkohol bei 230° schmolz. Sie war schwefelfrei und enthielt ionisiertes Chlor.

Gef. C 34,64, 34,48 H 5,03, 4,88 N 19,68, 19,80 Cl 16,05, 16,23.

Dieses Nebenprodukt konnte in einem zweiten Versuchsansatz, wobei mit überschüssiger $FeCl_3$-Lösung oxydiert wurde, nicht gefaßt werden. Es entstanden dabei aus 3 g „Isocarbamat" 3 g Roh-Oxydationsprodukt vom Schmp. 192—197° (u. Zers.); nach 3maligem Umkristallisieren aus Eisessig stieg der Zersp. auf 210—213°.

Umsetzung des „Isocarbamates" mit Silbernitrat. 6 g „Isocarbamat" wurden unter Erwärmen in 125 ccm reinem Alkohol +21 ccm Dioxan gelöst und mit etwa 10 g Silbernitrat, in 10 ccm Wasser gelöst, gefällt. Den abzentrifugierten Niederschlag wuschen wir zuerst mit Alkohol, dann mit Aceton und trockneten an der Luft. Die erhaltenen 12,9 g Silbersalz wurden feingepulvert in 135 ccm Wasser +135 ccm Aceton aufgeschlämmt, Schwefelwasserstoff zur Sättigung eingeleitet und eine Zeit lang geschüttelt. Die filtrierte Lösung engte man i. V. etwa auf das halbe Volumen ein und schüttelte mit Äther aus.

In Aether lösl. Teil: 7,5 g von scharfem, senfölartigem Geruch. Leicht löslich in heißem Alkohol und Wasser. Aus Benzol umkristallisiert: Schmp. 117—120°. Nochmals aus heißem verdünntem Alkohol umgelöst 116—118° (XI). Zur Analyse bei 80° i. V. über P_2O_5 getrocknet. Löslich in verd. NaOH, nicht in Na_2CO_3. Alkoho-

lische Lösung gibt intensive Violettfärbung mit Nitroprussidnatrium. Löslich in konz. H_2SO_4 mit gelber Farbe unter H_2S-Entwicklung.

$C_6H_{12}O_3N_2S_2$ (224,2) Ber. C 32.12 H 5,39 N 12,49 S 28,59
Mol.-Gew. (Rast)228,6 Gef. ,, 33,32, 33,41 ,, 5,38, 5,58 ,, 12,82 ,, 27,73, 27,87

In Äther unlösl. Teil: Die wäßrige, mit Äther ausgeschüttelte Lösung, wurde i. V. zur Trockne eingeengt; dabei traten etwas rotbraune NO_2-Dämpfe auf. Ausbeute 2,6 g. In heißer Essigsäure gelöst und mit etwas Aceton ausgefällt. Schmp. 207—209° (u. Zers.). In kochendem Wasser sehr schwer löslich, in verd. NaOH löslich. Noch 2mal aus Eisessig umkristallisiert. Schmp. 204—206° (u. Zers.).

$C_7H_{13}O_4N_3S_2$ (267,2) Ber. N 15,70
Gef. ,, 16,56.

In einem weiteren Ansatz schmolz die ätherunlösliche Substanz nach dem Umkristallisieren aus kochendem H_2O bei 191—192° (X).

$C_7H_{13}O_5N_3S_2$ (283,2)
Ber. C 29,7 H 4,63 N 14,84 S 22,63
Gef. ,, 29,74, 29,85 ,, 4,70, 4,78 ,, 14,77, 14,93 ,, 22,85, 22,59.

Zur Dehydrierung der gesättigten Fettsäuren

I. Zur Frage nach der Bildung von Ölsäure aus Stearinsäure

Von *Wilhelm Franke*, *Heinrich Rügge* und *Klaus Gäbelein*

(Aus dem chem. Institut für organisch-chemische Technologie und Gärungschemie der Universität Würzburg)

Mit 2 Figuren im Text

[Eingelaufen am 4. August 1948]

Die Überführung gesättigter Fettsäuren in ungesättigte ist ein Vorgang, der sowohl vom rein chemischen wie vom biochemischen Standpunkt aus erhebliches Interesse beansprucht, das vor allem durch die besonderen physikalischen Eigenschaften und die erhöhte chemische Reaktionsbereitschaft der ungesättigten Fettsäuren und ihrer Derivate bedingt ist. Trotzdem ist die Zahl der einschlägigen präparativen Untersuchungen heute noch recht gering.

Seit den über 25 Jahre zurückliegenden grundlegenden Arbeiten Thunbergs[1]) und Wielands[2]) zum Mechanismus der biologischen Oxydation nimmt man allgemein an, daß der Abbau der gesättigten Nahrungsfettsäuren im Organismus auf dem Wege über eine primäre *Desaturierung* oder *Dehydrierung* erfolgt. Erst in den 30er und 40er Jahren aber haben die dabei in Betracht kommenden *dehydrierenden Enzyme* der tierischen und der Bakterien-Zelle eine etwas eingehendere Bearbeitung gefunden (Quagliariello und Mazza nebst Mitarbeitern, Yosii, K. Lang und Mitarbeiter[3]). Es bleibt aber noch viel zu tun übrig, denn selbst eine so grundlegende Frage wie die nach dem *primären Reaktionsprodukt der Stearinsäuredehydrierung*

[1]) T. Thunberg, Skand. Arch. Physiol. **40**, 1 (1920).
[2]) H. Wieland, Erg. Physiol. **20**, 477 (1922).
[3]) Vgl. Zusammenfassung von F. P. Mazza, Erg. Enzymforsch. **9**, 207 (1943).

scheint bis heute noch nicht entschieden zu sein: Mazza[3]) nimmt an, daß es eine Δ-2,3-ungesättigte Säure (α-β-Ölsäure), Lang[4]) glaubt, daß es die gewöhnliche (Δ-9,10-) Ölsäure ist, beide nicht ohne experimentelle Unterlagen. Während sich Mazzas Auffassung zwanglos in das seit langem als Hauptabbauweg der Fettsäuren im Organismus anerkannte Schema der Knoopschen *β-Oxydation*[5]) einfügt, belegen andrerseits Stoffwechselversuche mit deuterierter Stearinsäure (bzw. Palmitinsäure) deren Übergang in Ölsäure (bzw. Palmitinölsäure)[6])[7]). Möglicherweise existieren *verschiedene* Fettsäuredehydrasen mit unterschiedlichem Effekt.

Über die *rein chemische* Überführung von Stearinsäure in (gewöhnliche) Ölsäure berichtet eine — auch in neuester Zeit des öfteren zitierte[8]) — kurze Mitteilung von L. Margaillan u. X. Angeli[9]) aus dem Jahre 1938. Die Autoren geben an, daß sie beim Überleiten eines Gemisches von dampfförmigem *Stearinsäure-methylester* und *Äthylen* (als H-Acceptor) über *Nickel*[10]) bei 220° ca. 23% der eingesetzten Stearinsäure in Form von Ölsäure fassen konnten. Auch in *flüssiger* Phase und mit *Naphthalin* als H-Acceptor soll die Dehydrierung, wenn auch weniger leicht, durchgeführt werden können. Dagegen soll *Palmitinsäure-methylester* unter den angegebenen Versuchsbedingungen nicht dehydriert werden. Angaben über Versuchszeiten fehlen.

Die spärlichen und z. T. widerspruchsvollen Angaben über die Dehydrierung höherer gesättigter Fettsäuren — im Gegensatz zu der umfangreichen und sich teilweise schon auf großtechnische Durchführung beziehenden Literatur über die Dehydrierung von *Paraffinkohlenwasserstoffen* (vgl. z. B.) [11]), [12]), [13])) — ließen es angezeigt erscheinen, die vorhandenen Befunde einmal kritisch nachzuprüfen und nach Möglichkeit zu erweitern. Wir begannen zu diesem Zweck Ende 1943 zunächst mit der Nacharbeitung der Untersuchungen von Margaillan u. Angeli über die nichtenzymatische Dehydrierung der Stearinsäure am Nickelkontakt. Aus kriegsbedingten Gründen mußten unsere Versuche anfangs 1945 abgebrochen werden und ein Teil des Versuchsmaterials ging verloren. Da unsere Versuche — von der Ausarbeitung einer geeigneten Methodik ganz abgesehen — aber doch bereits zu gewissen Ergebnissen, wenn auch vorwiegend ausschließender Natur, geführt hatten, sollen sie auszugsweise hier zur Veröffentlichung kommen.

[1]) K. Lang u. F. Adickes, Hoppe-Seylers Z. **262**, 123 (1939).

[5]) Vgl. neueste Zusammenfassung von P. Ohlmeyer, Angew. Chem. **60** (A), 29 (1948).

[6]) R. Schoenheimer u. D. Rittenberg, J. biol. Chem. **113**, 505 (1936); **114**, 381 (1936). — D. W. Stetten jr. u. R. Schoenheimer, J. biol. Chem. **133**, 329 (1940). — K. Bernhard u. R. Schoenheimer, J. biol. Chem. **133**, 707 (1940).

[7]) Vgl. auch Zusammenfassung von R. Schoenheimer u. D. Rittenberg, Physiol. Rev. **20**, 218 (1940).

[8]) Vgl. z. B. W. Wolf, Fette und Seifen **49**, 117 (1942); H. P. Kaufmann u. G. Ganeff, Fette und Seifen **50**, 425 (1943); Th. A. Lennartz, Angew. Chem. **59**, 10 (1947).

[9]) C. R. **206**, 1662 (1938).

[10]) Bei 190° reduziert.

[11]) a) F. E. Frey u. W. F. Huppke, Ind. Eng. Chem. **25**, 54 (1933); b) F. E. Frey u. H. J. Hepp, Ind. Eng. Ind. **25**, 441 (1933).

[12]) A. v. Grosse, V. N. Ipatieff, G. Egloff u. J. C. Morrell, Oil Gas. J. **38**, Nr. 28, 53, 55, 56 (1939); Ind. Eng. Chem. **32**, 268 (1940).

[13]) A. A. Balandin, Mitt. Akad. Wissensch. USSR. (Abt. Chem.) **1942**, Nr. 1 (russ.).

Methodik

1. Substrate. Zur Verwendung gelangten *Methylstearat* und *Methylpalmitat*, die in üblicher Weise durch Veresterung der freien Fettsäuren gewonnen wurden. Da reinste *Stearinsäure* gegen Ende des Krieges nur mehr in unzureichender Menge im Handel beschafft werden konnte, mußten wir sie häufig erst durch die mühsame und verlustreiche Esterfraktionierung aus technischem Stearin oder durch katalytische Hydrierung von Leinöl bei gelinde erhöhter Temperatur selbst herstellen. Reine *Palmitinsäure* gewannen wir des öfteren durch Aufarbeitung von Rinderfett[14]).

2. H-Acceptoren. Als solche dienten teils *Äthylen* (aus Alkohol und konz. Schwefelsäure in üblicher Weise dargestellt), teils das später als wirksamer erkannte *Acetylen* (aus Calciumcarbid und Wasser gewonnen).

3. Katalysatoren. In der überwiegenden Mehrzahl der Versuche wurde feinstverteiltes *Nickel*, das bei 250—300° im H_2-Strom aus dem auf Tonscherben oder Bimsstein aufgesaugten und in der Hitze zersetzten Nitrat[15]) erhalten worden war, verwendet. Bei Verwendung in gleicher Weise *ohne* Trägersubstanz reduzierten Nickels kam es durch Kohlenstoffabscheidung und Verkrustung des Katalysators zu dessen baldiger Inaktivierung. Nickel auf Aktivkohle oder Kieselgur zeigte dem zumeist verwendeten Trägerkatalysator gegenüber zum mindesten keine Vorteile.

Kupfer auf Bimsstein hatte nur etwa ⅓ der Aktivität eines durchschnittlichen Nickelkatalysators. Auch mit *Palladium*-Bimsstein wurden keine besseren Erfahrungen gemacht. Einige Versuche mit pulverförmigem *Selen* ergaben bei flüssigem Fettsäureester ebenfalls nur geringe Dehydrierungsgrade.

4. Versuchsanordnungen. A) Bei der Mehrzahl unserer Versuche wurde in *flüssiger* Phase gearbeitet. Ein vertikales ca. 50 cm langes Glasrohr, das sich in einem Heräus-Röhrenofen befand, enthielt Katalysator und Substrat und wurde während des Versuchs von unten her durch eine Glasfritte mit C_2H_4 oder C_2H_2 durchströmt (Fig. 1). Ein aufgesetzter Kühler verhinderte Substratverluste und gestattete die Ableitung von gasförmigen Reaktionsprodukten (z. B. CO u. CO_2) zwecks Bestimmung. Das Verfahren arbeitete *diskontinuierlich*, die Aufarbeitung des Reaktionsguts erfolgte am Versuchsende.

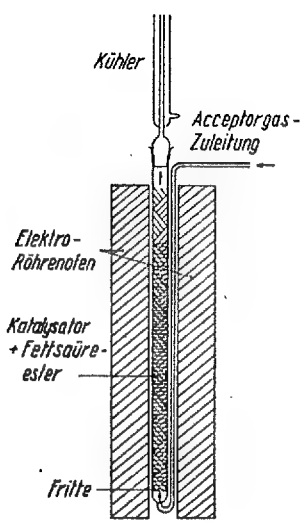


Fig. 1

B) In den späteren Phasen unserer Untersuchung wurde eine Apparatur entwickelt, die ein *kontinuierliches* Arbeiten in der *Dampfphase* i. V. und Probeentnahmen zu beliebiger Zeit gestattete. Fig. 2 läßt Einzelheiten der etwa 1 m langen Apparatur und des Arbeitsverfahrens erkennen. Mit dieser Apparatur konnten allerdings nur mehr wenige Versuche ausgeführt werden.

5. Reaktionsverfolgung. Das Ausmaß der Dehydrierung wurde durch *Jodzahl*-Bestimmungen verfolgt. Proben des Reaktionsguts wurden in Chloroform gelöst und dem Bestimmungsverfahren von H. P. Kaufmann[16]) (mit methylalkoholischer Brom-Bromkalium-

[14]) Lit. siehe z. B. A. Bömer u. J. Grossfeld, Hdb. d. Lebensmittelchem. IV, 343 (Berlin 1939).

[15]) Gewichtsverhältnis krist. Ni-Nitrat/Trägersubstanz etwa 1:10.

[16]) H. P. Kaufmann, Studien auf d. Fettgebiet, S. 23 (Berlin 1935).

lösung arbeitend) unterworfen[17]). Die theoretische Jodzahl der Hexadecensäuren ist 96, die der Octadecensäuren 90. Im Versuchsteil wird das Ausmaß der Dehydrierung des öfteren in Prozenten dieser Jodzahlen ausgedrückt („Dehydrierungsgrad").

In einigen Fällen erfolgte weitere Auftrennung des Reaktionsgemisches nach den in der Fettchemie üblichen Methoden (z. B. Verseifung, Ausäthern des Unverseifbaren, Trennung von festen und flüssigen Seifen, Abscheidung der freien Fettsäuren, Petroläther-fraktionierung usw.). Die Lage der Doppelbindung in ungesättigten Anteilen wurde durch Permanganatoxydation in Acetonlösung und anschließende Wasserdampfdestillation der flüchtigen Säuren zu ermitteln versucht. Weitere Angaben siehe Versuchsteil.

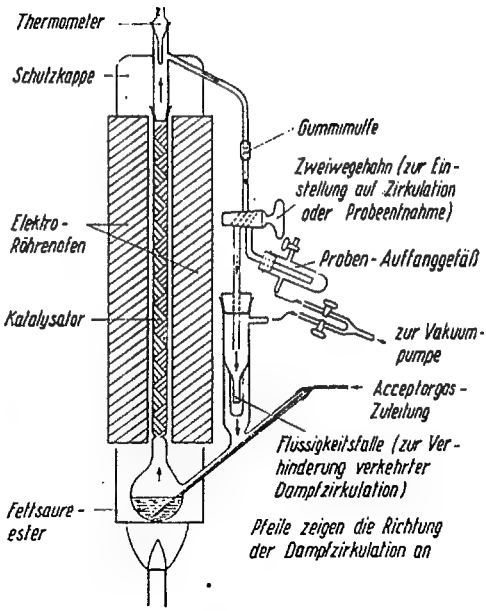


Fig. 2

Versuchsteil

A. Versuche in flüssiger Phase

1. Orientierende Versuche. Unsere ersten Ansätze, bei denen ein Gemisch von Methylstearatdampf und Äthylen über den in einem horizontalen, auf 220° erhitzten Verbrennungsrohr befindlichen Nickel-Bimsstein-Katalysator geleitet wurde, führten auch bei mehrstündiger Dauer und wiederholtem Durchpassierenlassen derselben Estermenge nur zu geringfügiger Dehydrierung (einige Prozente der für Ausbildung einer Doppelbindung im Material zu erwartenden). Erst als wir mit Versuchsanordnung A in flüssiger Phase arbeiteten und dabei die Temperatur auf 250—300°, die Versuchsdauer auf 10—20 Stunden steigerten, erhielten wir Produkte mit einer Jodzahl von maximal etwa 16—18 (ca. 20 % d. Th.). Weitere Erhöhung von Versuchstemperatur und -dauer war ohne Vorteil, da Nebenreaktionen (Decarboxylierung, „Vercrackung") und die damit zusammenhängende Verkrustung und In-

[17]) Säuren mit *carboxylnaher* Doppelbindung liefern unter den üblichen Reaktionsbedingungen bekanntlich zu tiefe Jodzahlen, α-β-Ölsäure z. B. nur 43% d. Th. Vgl. W. Franke, L. Lee u. D. Kibat, Biochem. Z., im Druck (1948). Dagegen scheinen (unverzweigte) *Olefin-Kohlenwasserstoffe* mit den üblichen Jodzahlmethoden (Wijs, Hanus, Kaufmann) richtige Werte zu ergeben (vgl. z. B. H. Koch, RWA-Berichte, Tagung vom 5. 4. 1940, S. 93).

aktivierung des Katalysators zunehmend stark in Erscheinung traten. Dagegen wurde ein erhebliches Ansteigen der Jodzahlen beobachtet, als an Stelle von Äthylen das thermodynamisch leistungsfähigere *Acetylen* als Acceptor verwendet wurde[17a]).

Über die energetischen Verhältnisse orientiert die nachstehende Zusammenstellung der freien Energien (ΔF_0) der in Frage kommenden Hydrierungs-Dehydrierungs-Reaktionen (unter Normalbedingungen bei 25°):

Palmitinsäure $\rightleftharpoons$ Palmitoleinsäure	21,44 kcal[18])
Äthan $\rightleftharpoons$ Äthylen	23,00 „ [19])
Äthylen $\rightleftharpoons$ Acetylen	38,54 „ [19])

Wie ersichtlich, sind Dehydrierung der gesättigten Fettsäure und Äthylenhydrierung energetisch einander ungefähr gleichwertig. Dagegen ist die Energielieferung bei der Acetylenhydrierung zu Äthylen 1,8mal, bei der Hydrierung zu Äthan sogar 2,9mal größer als der Energiebedarf der Fettsäuredehydrierung[20]).

Im Gegensatz zu Margaillan u. Angeli[9]) fanden wir, daß auch *Palmitinsäure*-methylester in ähnlicher Weise der Dehydrierung unterliegt wie der Stearinsäureester. Tab. 1 bringt zwei Parallelversuche mit Äthylen und Acetylen als Acceptoren.

Tab. 1

Jeweils 20 g Methylpalmitat[21]); Ni-Bimsstein-Katalysator; T = 270°

Nach Stunden	Jodzahlen mit Acceptor	
	Äthylen	Acetylen
0	(5,6)	(5,6)
3	6,8	10,5
5	7,1	12,5
7	7,5	13,8
9	8,0	15,9
11	8,6	17,8
13	9,3	20,1
15	10,0	22,6
17	11,2	—
19	11,8	—

[17a]) Nach Abschluß der vorliegenden Untersuchung wurden wir auf eine (während des Kriegs nicht allgemein zugängliche) Mitteilung von H. Hopf (Reichsber. f. Chemie 1, 9 (1944) aufmerksam, wonach durch Einleiten von C_2H_2 in Hg-haltige Carbonsäuren unterhalb 60° oder durch Überleiten von C_2H_2 + Carbonsäuredampf über Hg-haltige Füllstoffe bei 200° *Fettsäure-vinylester* gebildet werden; Zn oder Cd sollen an Stelle von Hg verwendet werden können. Ob diese Reaktion auch unter unseren Versuchsbedingungen eine Rolle spielt, müßte noch nachgeprüft werden.

[18]) Nach H. M. Kalckar, Chem. Rev. 28, 71 (1941).

[19]) Berechnet nach Landolt-Börnstein, Physikal.-chem. Tabellen, Erg.-Wk. II, 2845 (1936).

[20]) Mit steigender Temperatur erniedrigt sich der Energieumsatz bei Hydrierung/Dehydrierung, im System Äthan/Äthylen z. B. auf ca. 16 kcal bei 275° (ber. nach [11a]). Da die Temperaturabhängigkeit im Falle der Fettsäuredehydrierung nicht bekannt ist, lassen sich auf eine Gleichgewichtsverlagerung im gesamten Reaktionssystem keine weiteren Schlüsse ziehen.

[21]) Das aus Rinderfett hergestellte Produkt enthielt noch etwa 6% ungesättigten Fettsäureesters.

Das Ausmaß der Dehydrierung hängt — außer von Acceptor, Versuchstemperatur und -dauer — in erster Linie von der Wirksamkeit des jeweils verwendeten Katalysators ab. In einem besonders günstigen Falle wurde z. B. bei 250° mit Methylstearat und Acetylen als Acceptor schon nach 3 Stunden eine Jodzahl von 32,4 erreicht.

Auch *ohne* Acceptor erfolgt in gewissem Umfange Dehydrierung am Nickelkontakt. Beim Durchleiten von gereinigtem N_2 durch sehr reines Methylstearat bei 250° betrug die Jodzahl des Reaktionsprodukts nach 10 Stunden 6,0. Ohne Durchleiten von Stickstoff wurde nach der gleichen Zeit eine Jodzahl von 16,0 beobachtet. Daß hier geringe Mengen von *Luftsauerstoff* als Acceptor gewirkt haben, beweist ein weiterer bei nur 200° ausgeführter Versuch mit Methylstearat, der nach 24 Stunden die Jodzahl 46,2 lieferte. Doch erfolgt auch hier gleichzeitig deutliche Zersetzung des Esters (unter Bildung niedermolekularer flüchtiger Produkte sowie von CO_2 und H_2O).

2. Erste Versuche zur Auftrennung des Reaktionsgemischs. a) 8 g eines aus Methylpalmitat mit C_2H_2 erhaltenen, z. T. flüssigen, z. T. festen Dehydrierungsprodukts von rotbrauner Farbe und der Jodzahl 15 wurden in 500 ccm Petroläther gelöst und die Lösung auf — 18° abgekühlt. Aus dem hierbei ausfallenden Niederschlag ließ sich durch Verseifung und wiederholte Extraktion der Seifenlösung mit Äther oder Petroläther *Palmiton* in einer Menge von 0,5 g (= 6,3 %) isolieren (während aus der angesäuerten Seifenlösung erhebliche Mengen unveränderter Palmitinsäure [ca. 0,2 g] abgeschieden werden konnten).

In ähnlicher Weise und mit ähnlicher Ausbeute wurde aus Methylstearat *Stearon* erhalten und durch Schmelzpunkt und Mischschmelzpunkt mit einem aus Calciumstearat erhaltenen Vergleichsprodukt (F 87—88°) als solches identifiziert.

Die Bildung von Stearon beim Erhitzen von Stearinsäure auf 280—370° in Gegenwart von Metallpulvern oder -drehspänen (besonders von Fe, ferner von Mn und Al) ist bekannt[22]) [23]). Eine Beziehung zwischen Dehydrierungs- und Decarboxylierungsaktivität von Nickelkatalysatoren scheint nach unseren Erfahrungen nicht zu bestehen; ein sehr schlechter Dehydrierungskatalysator, der innerhalb 24 Stunden Methylstearat nur bis zur Jodzahl 7 dehydrierte, lieferte in der gleichen Zeit mehr als 10% Stearon.

b) Aus dem Petrolätherfiltrat a wurde das Lösungsmittel abgedampft, der Rückstand mit NaOH verseift und die Seifenlösung mit Äther extrahiert. Der unverseifbare ätherlösliche Anteil machte 3,1 g (= 39 %) aus und zeigte eine Jodzahl von 22, die aus der Seifenlösung abgeschiedene Fettsäure wog 4,2 g (52,5 %) bei einer Jodzahl von 12. Das unverseifbare Material von salbenartiger Konsistenz bestand zweifellos zum größten Teil aus einem Gemisch *höherer Paraffine* und *Olefine* (wohl meist C_{15}), die aus der gesättigten Fettsäure durch CO- und CO_2-Abspaltung (evt. begleitet von Dehydratisierung und Dehydrierung) entstanden waren. Das Verhältnis Olefin/Paraffin lag bei

[22]) T. H. Easterfield u. C. M. Taylor, J. Chem. Soc. **99**, 2298 (1911).
[23]) A. Grün, E. Ulbrich u. F. Krczil, Z. angew. Chem. **39**, 423 (1926).

1:5[24]), das Verhältnis Olefincarbonsäure/Paraffincarbonsäure bei 1:8, das Verhältnis Olefin/Olefincarbonsäure bei 1:1,1. Aus der zurückgewonnenen Fettsäuremenge von fester Konsistenz, die zum überwiegenden Teil aus unveränderter Palmitinsäure besteht, läßt sich schließen, daß im vorliegenden Versuch nur etwas über die Hälfte des eingesetzten Methylpalmitats durch Dehydrierung oder Decarboxylierung umgesetzt worden ist.

Versuche mit ähnlichem Ergebnis sind in größerer Zahl durchgeführt worden. Der Anteil der Decarboxylierung am Gesamtumsatz der Fettsäure nimmt im allgemeinen um so mehr zu, je geringer die Dehydrierungsaktivität des Katalysators, je höher die Reaktionstemperatur und je länger die Versuchsdauer ist. Während im obigen Versuch bei einem „Dehydrierungsgrad" (S. 101) von 15,6 % im Reaktionsgut 45 % Unverseifbares[25]) enthalten waren, wurden in dem S. 103 erwähnten besonders günstigen dreistündigen Versuch bei einem Dehydrierungsgrad von 36 % nur 17 % Unverseifbares (von der Jodzahl 19) erhalten. Während im ersten Falle das Verhältnis Gesamt-Dehydrierung/Decarboxylierung 1:2,9 beträgt, ist es im letzteren 1:0,47.

Weitgehende und mit der Temperatur ansteigende *Decarboxylierung* ist auch von Marks u. Howard jr.[26]) beim Erhitzen von *Ölsäure* mit feinverteiltem Nickel im Bereich von 235—490° festgestellt worden. Auf Grund von Gasanalysen[26a]), Jodzahl- und Molekulargewichtsbestimmungen kommen die Autoren zu dem Schluß, daß sich die Hauptreaktion bei ihren Versuchen durch die Gleichung

$$2\,n\,C_{17}H_{33}COOH = n\,C_{17}H_{34} + (C_{17}H_{32})n + 2\,n\,H_2O + 2\,n\,CO$$

ausdrücken läßt. Die unter ihren Versuchsbedingungen zweifellos ebenfalls erfolgte *Oleon*bildung (vgl. z. B. Easterfield u. Taylor[22]) haben die Verfasser übersehen, desgleichen scheinen sie der aus ihren Versuchsdaten eindeutig hervorgehenden *Dehydrierung* (die sich hauptsächlich auf die unverseifbaren Reaktionsprodukte bezieht) keine größere Bedeutung beizumessen.

c) An dem bereits wiederholt erwähnten Methylstearat-Ansatz, der zu einem Reaktionsprodukt von der Jodzahl 32,4 (entspr. Dehydrierungsgrad 36 %) geführt hatte, wurde versucht, durch Oxydation mit $KMnO_4$ in Aceton Anhaltspunkte für die Lage der Doppelbindung in den ungesättigten sauren Anteilen zu gewinnen. Hierzu wurde das Reaktionsgemisch (ca. 6 g) verseift, der unverseifbare Anteil mit Äther extrahiert, der saure Anteil erneut verestert und der Permanganatoxydation in stabilem Aceton unter den in der Fettchemie üblichen Bedingungen

[24]) Unter der Annahme, daß das Olefin hauptsächlich aus $C_{15}H_{30}$ besteht.
[25]) Unter Einbeziehung des gebildeten Palmitons.
[26]) B. M. Marks u. H. C. Howard jr., J. phys. Chem. 32, 1040 (1928).
[26a]) Vom Gesamtvolumen $CO_2 + CO$ macht das CO_2 in 9 Versuchen nur 6,7 bis 15,6, im Mittel 10% aus. CO und H_2O entstehen offenbar in annähernd äquimolaren Mengen. Es erscheint uns wahrscheinlich, daß die CO_2-Abspaltung zum *Keton* führt, während die $CO + H_2O$-Abspaltung (begleitet von geringer H_2-Abspaltung) die *Kohlenwasserstoff*-Bildung bedingt.

(vgl. z. B. [27]), [28]), [29])) unterworfen[30]). Das erhaltene Säuregemisch (Mono- und Dicarbonsäuren bzw. Dicarbonsäure-halbester), gewichtsmäßig 18% des Oxydationsansatzes ausmachend, wurde längere Zeit mit Wasserdampf destilliert, wobei 6% flüchtige Anteile und 9% Rückstand erhalten wurden. Der Rückstand von halbfester Beschaffenheit wurde nicht weiter aufgearbeitet[31]). Dagegen ergab das Wasserdampfdestillat (vom Geruch mittlerer Fettsäuren) bei der Neutralisation mit n-NaOH ein Äquivalentgewicht von 211 und bei der Fällung mit $AgNO_3$ ein Silbersalz, das (getrocknet) 35,0% Ag enthielt, was leidlich gut auf *Laurinsäure* ($C_{11}H_{23}$·COOH; Äquiv.-Gew. 200,3; Ag-laurinat 35,13% Ag) stimmen würde. Infolge der geringen Substanzmenge konnte auf Einheitlichkeit nicht geprüft werden. Jedenfalls spricht die schlechte Ausbeute, insbesondere an flüchtiger Säure dagegen, daß Ölsäure (die die gut H_2O-flüchtige Pelargonsäure liefern müßte) in erheblicher Menge bei der Stearinsäuredehydrierung gebildet wird[32]). Wahrscheinlicher ist, daß eine über den carboxylnahen Bereich „verschmierte" Dehydrierung zu „Isoölsäuren" erfolgt und daß die gefaßte Laurinsäure (die an der Grenze der Wasserdampfflüchtigkeit liegt) etwa die obere Begrenzung dieses carboxylnahen Bereichs darstellt[33]).

B. Versuche in Dampfphase

Bei diesen Versuchen wurde i. V. bei 250—300° unter Zirkulation des Reaktionsgemischs von Fettsäureester und Acceptorgas gearbeitet. Bei nur dreistündiger Versuchsdauer ließen sich bereits Produkte mit Jodzahlen zwischen 25 und 40, in einem Falle sogar von 55 gewinnen. Wichtiger noch ist, daß unter diesen Bedingungen im Gegensatz zu den

[27]) R. D. Haworth, J. Chem. Soc. **1929**, 1456.

[28]) E. H. Farmer u. F. A. van den Heuvel, J. Chem. Soc. **1938**, 427.

[29]) C. L. Arcus u. I. Smedley-Maclean, Biochem. J. **37**, 1 (1943).

[30]) Ein Testversuch mit je 3 g Methylstearat und Methyloleat lieferte 25% d. Th. an Pelargonsäure, 43% d. Th. an Azelainsäure.

[31]) In ihm waren neben den oxydativ gebildeten Dicarbonsäuren auch die nichtangegriffene Stearinsäure sowie evt. deren nichtwasserdampfflüchtige Homologen (bis etwa C_{12}) zu erwarten.

[32]) Die Versuche sollten unter Verwendung der Ozonidspaltungsmethode von F. Asinger (Ber. chem. Ges. **75**, 656 (1942), nach der wir im Testversuch an Stearinsäure-Ölsäure-Gemisch 60—70% der Spaltstücke isolieren konnten, wiederholt werden, was wegen Zerstörung des Ozonisators unterbleiben mußte.

[33]) Es ist in diesem Zusammenhang von Interesse, daß A. H. Salway u. P. N Williams (J. Chem. Soc. **121**, 1343 [1922]) bei der Mn-katalysierten *Autoxydation* von Stearinsäure (24 Stdn. bei 120—130°) als Hauptprodukte CO_2, niedere Fettsäuren von Ameisen- bis Buttersäure, nahe Homologe der Stearinsäure, langkettige Oxysäuren und γ-Lactone (neben etwas langkettigen Dicarbonsäuren und Dicarbonsäurelactonen) fanden. Auch bei der Cu-katalysierten Oxydation höherer Fettsäuren mit H_2O_2 ist ein „Reaktionsbereich" zwischen α- und δ-Atom beobachtet worden P. W. Clutterbuck u. H. S. Raper, Biochem. J. **19**, 385 (1925); I. Smedley u. M. S. B. Pearce, Biochem. J. **25**, 1252 (1931).

Versuchen in flüssiger Phase die Decarboxylierung zu einer unbedeutenden Nebenreaktion wird, wie dies die nachfolgenden Versuchsdaten belegen.

5,2 g eines Reaktionsprodukts von Methylstearat (Jodzahl 31) wurden verseift und die Seifenlösung ausgeäthert. Das Unverseifbare mit der Jodzahl 39 wog nu 0,25 g (= 4,8%). Aus den abgeschiedenen Fettsäuren ließ sich durch Petrolätherbehandlung bei — 18° 1,15 g (= 22%) rohe Stearinsäure (Jodzahl 6,3) und 3,65 g (= 70%) eines Fettsäuregemisches von halbfester Konsistenz mit der Jodzahl 40 abtrennen.

Die präparative Aufarbeitung von Dehydrierungsansätzen in Dampfphase konnte aus äußeren Gründen nicht mehr durchgeführt werden. Einige Vorversuche zeigten jedoch, daß auch unter diesen Bedingungen kein einheitliches Dehydrierungsprodukt, sondern ein Gemisch ungesättigter Fettsäuren erhalten wird, dessen Hauptkomponente *nicht* die gewöhnliche Ölsäure darstellt.

Die Versuche sollen zu gegebener Zeit fortgesetzt werden.

Frl. Irmi Hörmann sind wir für fleißige und geschickte Mitarbeit auch unter ungünstigen äußeren Verhältnissen zu Dank verpflichtet.

Nachtrag bei der Durchsicht. Zu Anfang des Jahres 1948 sind zwei Arbeiten französischer Forscher erschienen, deren erste (J. Moretti, C. R. **226**, 188 (1948) sich mit der Einwirkung von Raney-Nickel auf höhere Fettsäuren, deren zweite (C. Paquot u. F. de Goursac, C. R. **226**, 258 [1948]) sich mit der durch Nickel-Phtalocyanin katalysierten Autoxydation von Palmitinsäure und Äthylpalmitat befaßt. Die Ergebnisse beider Untersuchungen stehen mit unseren Versuchen im Einklang und ergänzen sie. Moretti arbeitet bei 220—280° mit dünnen Fettsäureschichten unter N_2 und findet z. B. in einem 200stündigen Versuch mit Stearinsäure folgende Produkte: 4% Gas ($CO > CO_2$), 28% gesättigte Fettsäure, 4% ungesättigte Fettsäure, 28% Ni-Stearat, 8% Wachs (Stearate von Fettalkoholen), 4% Stearon, 24% Kohlenwasserstoffe C_{17} und 1% C_{18}-Alkohol. Kohlenwasserstoffe und Alkohol (frei und gebunden) enthalten 65% ungesättigte Anteile. Nach Moretti reduziert der am Ni-Kontakt freiwerdende Wasserstoff einen Teil der Fettsäure zu Aldehyd und Alkohol, die ihrerseits z. T. unter CO-Verlust in Kohlenwasserstoffe übergehen. Die primär gebildete ungesättigte Fettsäure geht zum größten Teil sekundär in Kohlenwasserstoff (und Alkohol) über. Beim Arbeiten i. V. findet Moretti das Ausmaß der Decarboxylierung auf die Hälfte reduziert, die Ausbeute an ungesättigter Fettsäure aber im wesentlichen unverändert. Über die chemische Natur der letzteren fehlen Angaben. Paquot u. de Goursac finden beim Durchleiten von Luft durch Palmitinsäure oder deren Ester bei 100° in Gegenwart von 1% Nickelkatalysator nach 160—300 Stunden als Produkte hauptsächlich Myristin- und Laurinsäure neben geringen Mengen an Caprin- und Caprylsäure sowie Oxalsäure und CO_2. Ferner wird die Bildung von Ketonkörpern und Lactonen beobachtet. Für eine besondere Reaktionsfähigkeit der Molekülmitte bestehen keine Anhaltspunkte. Die Autoren deuten ihre Ergebnisse durch das Nebeneinanderbestehen einer β-Oxydation (gefolgt von Säure- oder Ketonspaltung) und einer (dagegen zurücktretenden) γ- oder δ-Oxydation.

Wir sind der Auffassung, daß auch unter den aeroben Versuchsbedingungen von Paquot u. de Goursac (ähnlich wie in den älteren Versuchen von Salway u. Williams[33]) primär in Carboxylnähe Doppelbindungen ausgebildet werden, die durch weiteren O_2-Angriff im allgemeinen rasch aufgespalten werden. Unter den anaeroben Versuchsbedingungen Morettis und auch unserer Arbeit bleibt dieses Primärstadium weitgehend erhalten.

Viscotoxin, ein neuer Inhaltsstoff der Mistel (Viscum album L)

Von *Karl Winterfeld* und *Leonard Hugo Bijl*

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Freiburg)

[Eingelaufen am 26. August 1948].

Den Inhaltsstoffen der Mistel hat man in den letzten Jahren ein stets wachsendes pharmakologisches und chemisches Interesse entgegengebracht. Obwohl im Laufe von über 40 Jahren eine größere Zahl von Arbeiten über die Mistel erschienen ist, besitzt man über die Natur ihrer Inhaltsstoffe nur spärliche und zum Teil widersprechende Angaben.

Einen Überblick über die Entwicklung der Mistelforschung gibt die nachstehende Zusammenstellung.

1881 Park[1]) findet eine digitalisartige Wirkung des Kaltwasserauszuges der Mistel.
1907 R. Gaultier und J. Chevalier[2]) stellen im Tierversuch die blutdrucksenkende Wirkung frischer und getrockneter Mistelauszüge fest. Diese wurde dann in der Folge bestätigt von Bonnamour und Niquet[3]); U. G. Bijlsma[4]); Cusmano[5]), E. Dressler, H. Kwiatkowsky u. E. Schilf[6]); E. A. Fubini und L. Antonini[7]); A. Holste[8]); M. Kochmann[9]); P. M. Niccolini[10]); J. Nolle[11]); Shin Maie[12]) und Tobler[13]).
1907 M. Leprince[14]) isoliert aus den Blättern und Stengeln ein flüchtiges Alkaloid ($C_8H_{11}N$) von nicotinähnlichem Geruch. Es liefert ein kristallisiertes Platinsalz. Daneben findet er ein Glucosid und einen harzartigen Stoff.
1907 G. Tanret[15]) weist in den Beeren der Mistel Inosit nach.
1908 J. Chevalier[16]) schließt auf Grund physiologischer Versuche auf Saponin.
1912 O. Barbieri[17]) bestätigt diesen Befund.
1918 J. van Itallie[18]) isoliert eine Carbonsäure, die mit Urson identisch sein soll.
1923 J. Einleger, J. Fischer und J. Zellner[19]) finden neben einem kristallisierten Harzalkohol Cholin, konnten jedoch weder ein flüchtiges Alkaloid nachweisen, noch Saponin.

[1]) The practioner, **271**, 348 (1881).
[2]) C. R. **145**, 941 (1907).
[3]) Bull. Sci. pharmacol. **25**, 283 (1918).
[4]) Arch. Neerl. Physiol. **11**, 141 (1927).
[5]) Gazz. **49**, 225 (1920).
[6]) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 428 (1933).
[7]) Arch. farmacol. sper. **12**, 450 (1911).
[8]) C. R. Soc. Biol. Paris **99**, 1257 (1928).
[9]) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 533 (1931).
[10]) Arch. Farmacol. sper. **43**, 1 (1926).
[11]) Ber. Physiol. **46**, 528 (1928).
[12]) Z. exper. Med. **50**, 549 (1926).
[13]) Diss. Bern 1920.
[14]) C. r. **145**, 940 (1907).
[15]) C. r. **145**, 1196 (1907).
[16]) C. r. Soc. Biol. Paris **64**, 111 (1908).
[17]) Arch. Farmacol. sper. **14**, 30 (1912).
[18]) Pharmac. Weekbl. **55**, 701 (1918).
[19]) M. **44**, 277 (1923).

1927 U. G. Bijlsma[20]) bestätigt die digitalisartige Wirkung des Kaltwasserauszuges der Mistel.
1929 H. Ebster und A. Jarisch[21]) stellen im Tierversuch eine langanhaltende, reflektorische Drucksenkung des Mistelextraktes verbunden mit einer toxischen Schädigung des Herzens fest.
1931 A. Winterstein und W. Hämmerle[22]) isolieren Oleanolsäure; sie bestreiten dagegen das Vorkommen von Ursol.
1931 M. Kochmann[23]) fand auf Grund pharmakologischer Untersuchungen neben einem toxisch wirkenden einen blutdrucksenkenden Anteil, der ein parasympathisches Reizgift darstellt und dem Acetylcholin nahesteht.
1932 J. A. Müller[24]) hält den blutdrucksenkenden Anteil für ein Gemisch von Acylderivaten des Cholins „sehr wahrscheinlich Propionylcholin, möglicherweise auch Acetylcholin."
1932 M. Guggenheim[25]) glaubt nicht an eine spezifische Alkaloidbase, vermutet vielmehr eine Identität mit Phenyläthylamin.
1936 K. H. Bauer und U. Gerloff[26]) isolieren außer Oleanolsäure zwei Harzalkohole $C_{30}H_{49}OH$.
1937 M. Roberg[27]) stellt fest, daß die in der Mistel vorhandenen Säuren nicht in glucosidischer Bindung als Saponin, sondern als Sapogenin vorliegen und daher Viscum nicht als Saponindroge anzusprechen ist.
1938 Fr. E. Koch[28]) berichtet über eine stark nekroseerzeugende Wirkung der Mistelextrakte. Er spricht das Mistelgift als echtes Phytotoxin im immunbiologischen Sinne an, da es an vorbehandelten Tieren eine ausgesprochene Schutzwirkung entfaltet.
1939 A. Jarisch und Richter[29]) erbringen auf Grund pharmakologischer Versuche den Nachweis, daß der flüchtig blutdrucksenkende Stoff ein durch Atropin hemmbares, parasympathisches Reizgift ist und außer diesem ein herzschädigender Stoff in der Mistel enthalten sein muß.
1942 K. Winterfeld und A. Kronenthaler[30]) erbringen den Nachweis, daß in der Mistel ein Gemisch von Acetylcholin und Cholin vorliegt, aber kein Propionylcholin.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war, den herzschädigenden Inhaltsstoff zu isolieren und rein darzustellen. Versuche, diesen Stoff anzureichern, stießen auf erhebliche Schwierigkeiten, da ein chemischer Nachweis, der die Kontrolle über die Zunahme der Wirkungsstärke ermöglichte, nicht zu erbringen war. Fortschritte wurden erst erzielt, als es gelang, einen pharmakologischen Test zu finden, der auf einer langanhaltenden, reflektorischen Blutdrucksenkung, verbunden mit toxischen Schädigungen des Herzens bei der intravenösen Infiltration beruht. Mit Hilfe dieser Testmethode, die von Prof. Janssen und seinen Mitarbeitern am Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg

[20]) Arch. Néerl. Physiol. **11**, 141 (1927).
[21]) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **145**, 297, 312 (1929).
[22]) H. **199**, 56 (1931).
[23]) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 533 (1931).
[24]) Arch. Pharmaz. **270**, 449 (1932).
[25]) Biogene Amine, Berlin. 2. Auflage 1932.
[26]) Arch. Pharmaz. **274**, 473 (1936).
[27]) Arch. Pharmaz. **275**, 145 (1937).
[28]) Ztschr. ges. exp. Med. **103**, 740 (1938).
[29]) Klin. Wschr. **18**, 145 (1939).
[30]) Arch. Pharmaz. **280**, 103 (1942).

durchgeführt wurde, gelang die Anreicherung des gesuchten Wirkstoffes. Anfänglich wurden die Auswertungen an Kaninchen vorgenommen, später, als diese nicht mehr zur Verfügung standen, dienten weiße Ratten als Versuchstiere.

Von den verschiedenen Isolierungs- und Trennungsmethoden, derer wir uns im Laufe der Untersuchung bedient hatten, führte schließlich der nachstehend skizzierte Weg zur Anreicherung des herzschädigenden Anteils und ermöglichte gleichzeitig eine weitgehende Trennung von dem parasympathischen, blutdrucksenkenden Anteil.

Die gepulverte Nativdroge wird zur Entfernung unwirksamer Bestandteile mit Trichloraethylen extrahiert. Der *wirksame* Rückstand wird mit Eisessig ausgezogen, dann folgt eine Ausfällung mit Benzol, wobei die blutdrucksenkende Komponente in Lösung bleibt. Aus der wäßrigen Lösung des Niederschlags wird der wirksame Stoff erneut mit Aceton gefällt.

Diese stark herzwirksame Fällung wird aus starker Essigsäure noch ein Mal mit Äther oder Aceton ausgeschieden. Die so erhaltenen gelbbraunen Flocken stellen das Ausgangsmaterial für die Reindarstellung des Herzwirkstoffes dar. Am Kaninchen geprüft beträgt die Dosis letalis 5 mg/kg, an der Ratte 8 mg/kg. Auffallend hoch ist der Aschengehalt der Fällung, er schwankt zwischen 10—12 % und besteht vornehmlich aus Kalium-, Magnesium- und Phosphorsäure-Ionen. Alle Versuche, durch Adsorption, Dialyse, Fällungen und Entmischungsverfahren eine Anreicherung des herztoxischen Stoffes zu erreichen, führten zu keinem Erfolg. Erst die Anwendung von Ammonsulfat ermöglichte einen Fortschritt in der Anreicherung, denn wider alles Erwarten ließ sich der herztoxische Anteil durch Ammonsulfat aussalzen. An der Ratte geprüft, besaß die Fällung eine Dosis letalis von 7,3 mg/kg, was zwar gegenüber dem Ausgangsmaterial (8 mg/kg) keinen erheblichen Fortschritt bedeutete, aber prinzipiell einen Weg eröffnete, der schließlich zur Reindarstellung führte.

Aus dem mit Ammonsulfat entstandenen Niederschlag wurde die aktive Substanz mit Eisessig wieder in Lösung gebracht und aus dieser Lösung mit Methanol erneut gefällt. Die tödliche Dosis betrug jetzt 4 mg/kg Ratte. Nach Entfernung dunkel gefärbter Begleitstoffe durch Schütteln der Lösung in 90proz. Essigsäure mit Aktivkohle ließ sich mit Aceton ein hellgelbes Präparat von der Wirksamkeit 3,5 mg/kg Ratte abscheiden. Den weiteren Schritt der Reinigung bildete die Fällung dieses Präparates als *Reineckat*. Die daraus frei gemachte Base besaß eine Aktivität von 2 mg/kg . Durch Adsorption an einer „sauren Al_2O_3-Säule" ließen sich farbige Begleitstoffe entfernen und die Wiederholung der Reineckatfällung lieferte schließlich ein farbloses Präparat mit dem Grenzwert der pharmakologischen Wirksamkeit von 1,2 mg/kg Ratte. Durch weitere Reinigungsversuche wurde diese Wirksamkeit nicht mehr gesteigert.

Der nunmehr reine Wirkstoff wurde in Analogie zu den früheren Auswertungen am Kaninchen geprüft, hier betrug die dosis letalis 0,8 mg/kg. Der Herzstillstand trat, wie stets beobachtet, in Systole ein.

Eigenschaften des Viscotoxins

Der reine Wirkstoff ist von weißlich-grauer Farbe, pulveriger Beschaffenheit und an der Luft beständig. In Wasser und Methanol ist er spielend leicht löslich. Die wäßrige Lösung ist gelb bis hellbräunlich gefärbt und weist schwach saure Reaktion auf (p_H:5,2). In Äthanol, Isopropanol und Eisessig ist er schwer, in Äther, Chloroform und Benzol so gut wie unlöslich, dagegen löst er sich leicht in geschmolzenem Phenol. Der Aschengehalt des reinen Wirkstoffes beträgt 0,6 bis 0,7%. Beim Passieren einer unvorbehandelten Aluminiumoxydsäule nach Brockmann wird der in Wasser gelöste Wirkstoff in einer breiten, bräunlich gefärbten Schicht zurückgehalten. Durch Waschen mit verdünnter Essigsäure läßt er sich leicht eluieren. Ein Hinweis für die Reinheit und Einheitlichkeit des Mistelwirkstoffes ist der hinlänglich scharfe Zersetzungspunkt des Reineckates (263—266°) und des Pikrates (198—200°). Die Analysen des Herzwirkstoffes und seiner Salze erlauben die Aufstellung der Summenformel $C_{34}H_{68}O_{18}N_{10}S$. Das Molekulargewicht, kryoskopisch in wäßriger Lösung bestimmt, ergab 925, während sich für obige Formel 936 errechnet.

Über die chemische Natur des Viscotoxins

Zahlreiche Bearbeiter (l. c.) haben dem Wirkstoff der Mistel Saponin- bzw. Glucosidcharakter zugeschrieben, während andere wieder diese Eigenschaften bestreiten. Nachdem wir nun das reine Produkt in Händen hatten, konnten wir erneut die diesbezügliche Prüfung vornehmen und den Beweis erbringen, daß dem Stoff weder die eine noch die andere Eigenschaft zukommt.

Die Reaktionen auf Glucoside nach Molisch, Brunner-Pettenkofer und Keller-Kiliani waren negativ, ebenso wie die auf Saponine nach Rosoll, Reichardt und Sieburg.

Mit diesem Befund steht auch das Ergebnis der Bestimmung des hämolytischen Index nach L. Kofler[31]) in Übereinstimmung, wonach die 4proz. Lösung des Wirkstoffes keine hämolysierenden Eigenschaften besitzt. Nicht im Einklang damit steht jedoch die Tatsache, daß die wäßrige Lösung des reinen Wirkstoffes sich durch eine erhebliche Schaumkraft auszeichnet. Diese muß in einer bisher nicht erkannten Zusammensetzung ihre Ursache haben. Einen Fingerzeig, in welcher Richtung diese zu suchen ist, gab die leichte Aussalzbarkeit mit Ammonsulfat. Diese und die kolloidalen Eigenschaften der wäßrigen Lösung des Wirkstoffes deuten auf einen peptidartigen Aufbau hin. Zur Bestä-

[31]) Die Saponine, Wien 1927, S. 148 u. ff.

tigung führten wir eine Reihe bekannter Eiweißreaktionen durch und verglichen sie mit reinem Hühnereiweiß. Darnach waren positiv: Die *Biuret-* und die *Xanthoprotein*-Reaktion, die Reaktion nach Millon und die Schwefelprobe. Hingegen war die Indolreaktion nach Hopkins-Cole negativ, ebenso wie die *Ninhydrin*-Reaktion, die nur in der gepufferten Lösung, bei p_H=6,8 gegeben wurde.

Mit Ninhydrin reagieren bekanntlich auch Amine und Aminoaldehyde mit blauer Farbe, doch ist bei diesen Substanzen die Reaktion weniger empfindlich als bei den α-Aminosäuren. Die Tatsache, daß der reine Mistelwirkstoff, dessen p_H in wäßriger Lösung 5,2 beträgt, mit Ninhydrin keine Färbung gibt, aber in mit Phosphat gepufferter Lösung bei p_H 6,8 eine intensive Blaufärbung aufweist, ist ein Hinweis für die Gegenwart von α-Aminosäuren, von denen eine, nach der Schwefelbleireaktion zu schließen, Cystein sein muß. Eine weitere Bestätigung für den peptidartigen Aufbau liefert die vereinfachte Formoltitration nach Sörensen[32]). Nach der Säurespaltung war eine deutliche Zunahme der titrierbaren Carboxylgruppen in der mit Formol behandelten Lösung des Wirkstoffes feststellbar. Auch das Verhalten der mit Alkali versetzten Lösung des Wirkstoffes, die sich schon beim schwachen Erwärmen unter Entwicklung alkalisch reagierender Dämpfe zersetzt, deutet auf ein Peptid hin. Wenn durch die beschriebenen Versuche die Proteinnatur wahrscheinlich gemacht war, so bewies andererseits das Ergebnis der Selendehydrierung, daß der genuine Wirkstoff komplizierter zusammengesetzt ist. Dabei wurden neben *Ammoniumcarbonat*, das sich im Kühlrohr absetzte, auf dem im Versuchsteil ausführlich beschriebenen Wege *Pyridin* und ein als Pikrat isoliertes und analysiertes *Dimethylnaphthalin* isoliert. Das Pyridin wurde als Chloroaurat analysiert und außerdem durch die Komplexsalze mit Quecksilber und Platin identifiziert.

Einen weiteren wertvollen Einblick in den eigenartig komplizierten Aufbau des Mistelwirkstoffes ergab die Hydrolyse mit 0,5proz. Salzsäure. Sie führte nach 2½stündiger Einwirkung zum Auftreten eines Stoffes, der Fehlingsche Lösung reduzierte. Wir glauben, daß in diesem Verhalten auch die Ursache liegt, warum zahlreiche Bearbeiter auf die Anwesenheit von Glucosiden bzw. Saponinen schlossen. Eine genauere Untersuchung des Hydrolysates ergab jedoch, daß *Glucuronsäure* entstanden war, die wir mit Hilfe der charakteristischen Orcinreaktion nach Naumann[33]) nachwiesen und über das Bariumsalz nach den Angaben von Voss und Pfirschke[34]) in das *Brucinsalz* überführten. Zur weiteren Charakterisierung wurde noch das Cinchoninsalz dargestellt.

Damit ist gezeigt, daß der Mistelwirkstoff außer einem peptidartigen Anteil einen (wahrscheinlich hydrierten) Naphthalin-Ring besitzt, wie

[32]) Bioch. Z. 7, 45 (1908).
[33]) Biol. Z. 1, 383 (1906).
[34]) B. 70, 132 (1937).

die Auffindung des Dimethylnaphthalins unter den Produkten der Selendehydrierung beweist. Weiterhin muß aber an dem komplizierten Aufbau noch Glucuronsäure, und zwar allem Anschein nach in esterartiger Bindung, beteiligt sein.

Dem Mistelwirkstoff geben wir im Hinblick auf seine toxischen Eigenschaften den Namen „Viscotoxin".

Versuchsteil

Als Ausgangsmaterial kam ein von der Firma Caesar und Loretz, Halle bezogenes Drogenpulver zur Verwendung, das aus den getrockneten und fein gemahlenen Blättern und Stielen der Droge bestand. Das Pulver wurde solange im Soxhlet oder durch einfaches Ausziehen unter mechanischem Rühren und jeweiligem Abfiltrieren mit Trichloräthylen ausgezogen, bis das Extraktionsmittel nur noch schwach gefärbt erschien. Das noch feuchte Pulver wurde in flachen Schalen ausgebreitet und im Luftstrom getrocknet. Es wurde in Steingutflaschen aufbewahrt, wo es, wie die pharmakologischen Versuche ergaben, seine ganze Wirkung behielt.

Aufarbeitung und Anreicherung des Wirkstoffes

Die mit Trichloräthylen extrahierte Droge wurde in Glaszylindern unter Zuhilfenahme einer elektrischen Rührvorrichtung mit Eisessig ausgezogen, abfiltriert und der Rückstand nochmals in derselben Weise behandelt. Die vereinigten Filtrate enthalten praktisch den gesamten Herzwirkstoff. Durch Einfließenlassen in Benzol im Verhältnis 45:55 wird die herzwirksame Substanz ausgefällt, während die blutdrucksenkende in Lösung bleibt. Der Niederschlag hat sich nach 24stündigem Stehen am Boden des Gefäßes abgesetzt und kann durch Dekantieren von der überstehenden Flüssigkeit getrennt werden. Er wird in einer Porzellanschale durch Darüberblasen eines Luftstromes von anhaftendem Eisessig und Benzol befreit. Aus der zurückbleibenden, zähen, braunen Masse läßt sich der Herzstoff mit Wasser herauslösen. Der wasserunlösliche Rückstand ist im Tierversuch unwirksam. Die erhaltene braunrot gefärbte wäßrige Lösung wird nun in das vierfache Volumen Aceton eingegossen, wobei sich gelbe Flocken bilden, die sich beim Stehen zusammenballen. Die überstehende Flüssigkeit enthält nur noch geringe Mengen wirksamer Substanz und wird durch Dekantieren von der Fällung getrennt. Diese löst man in Eisessig und wenig Wasser und fällt durch Zugabe des vierfachen Volumens Acetons wieder aus. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Aceton und Äther gewaschen und getrocknet. Er stellt ein gelbbraunes Pulver dar, das bei der intraperitonealen Injektion an Ratten eine tödliche Dosis von 8 mg/kg aufweist.

5 g dieser Fraktion wurden in 200 ccm Wasser gelöst. Hierbei zeigt es sich, daß dieser Stoff sich in wenig Wasser (etwa 20 ccm) zunächst klar löst, die Lösung sich aber beim Verdünnen mit viel Wasser trübt. Der abgeschiedene Niederschlag war pharmakologisch unwirksam; er wurde abfiltriert und das klare Filtrat unter mechanischem Rühren allmählich mit festem Ammonsulfat im Überschuß versetzt, wobei sich ein voluminöser, flockiger Niederschlag nach einigem Stehen absetzt. Dieser wird abfiltriert, mit gesättigter Ammonsulfatlösung nachgewaschen und getrocknet. Er besitzt an der Ratte geprüft, einen durchschnittlichen Wirkungswert von 7,3 mg/kg.

Die Ammonsulfatfällung wurde mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, scharf abgesaugt, vom Filter genommen, in einer Porzellanschale mit etwa der zehnfachen Menge Eisessig sorgfältig verrieben und die dunkelbraun gefärbte Lösung von dem Ammonsulfat-Rückstand abfiltriert. Durch Zugabe des fünffachen Volumen Methanol zu dem Filtrat wurde ein braungelber Niederschlag abgeschieden, der gewaschen und getrocknet im Tierversuch den Wirkungswert 4 mg/kg Ratte aufwies. In dem Methanol-Eisessig-Filtrat waren nur geringe Spuren wirksamer Sub-

stanz zurückgeblieben. Aus einem Kilo Droge konnten nach diesem Verfahren 4 g angereicherter Wirkstoff vom Wirkungswert 4 mg gewonnen werden. Die Substanz erweist sich jetzt in reinem Eisessig als unlöslich und kann erst nach Zugabe von Wasser in Lösung gebracht werden. Zur weiteren Anreicherung wurden 1 g dieser Fraktion mit 100 ccm Eisessig und soviel Wasser versetzt, bis klare Lösung eintrat. Die Lösung wurde auf der Schüttelmaschine mit 5 g Carbo aktivatus Merck geschüttelt und alsdann über 5 g in einem Glasfilter geschichteter Aktivkohle filtriert. Das Filtrat war hellgelb gefärbt. Die Kohle wurde mit dem Lösungsmittel nachgewaschen und die Waschflüssigkeit mit dem ersten Filtrat vereinigt. Eisessig wurde aus dem Grunde als Lösungsmittel genommen, weil, wie schon Jarisch (l. c.) festgestellt hatte, der Wirkstoff aus neutraler wäßriger Lösung quantitativ von Kohle adsorbiert wird. Durch Fällen mit Aceton ließ sich aus dem eingeengten Filtrat eine Substanz abscheiden, deren Wirkungswert an der Ratte geprüft, 3,5 mg/kg betrug.

Diese Fraktion wurde in 50 ccm Wasser gelöst, schwach angesäuert und solange mit Reineckesalzlösung versetzt, bis kein Niederschlag mehr entstand. Die Fällung wurde abfiltriert, mit verdünnter Reineckesalzlösung gewaschen und scharf abgesaugt. Zur Zerlegung des Reineckates wurde die Fällung in Wasser aufgeschwemmt, durch Zugabe von Aceton in Lösung gebracht, mit Salzsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt. Der Vorgang wurde so oft wiederholt, bis der Äther sich nicht mehr färbte. Die von dem Äther abgetrennte wäßrige Phase wurde i. V. weitgehend eingeengt, mit Eisessig aufgenommen und mit Aceton gefällt. Der Niederschlag hatte nach dem Trocknen den bis dahin noch nicht erreichten Wirkungswert von 2 mg/kg Ratte.

Ein weiterer Versuch, durch fraktionierte Fällung mit Reineckesalz eine noch höhere Wirkungssteigerung zu erzielen, führte zu einer Substanz, deren tödliche Dosis sogar bei 1,5 mg/kg Ratte lag, während der erste Fällungsanteil nur einen Wirkungswert von 2,5—3 mg/kg Ratte besaß.

Die endgültige Reinigung des Wirkstoffes gelang uns in der Weise, daß die mit 2 mg wirksamen Fraktionen im Verhältnis 1:10 in Methanol gelöst und durch eine in folgender Weise präparierte Aluminiumoxyd-Säule nach Brockmann geschickt wurden. Aluminiumoxyd wurde mit etwa n/1-methanol. Salzsäure angerührt, alsdann absetzen gelassen und nach dem Abgießen solange mit reinem Methanol gespült, bis dieses nur schwach sauer reagierte. Das so behandelte Aluminiumoxyd wurde in ein Glasrohr von 1 cm Durchmesser zu einer Höhe von 15 cm gefüllt und durch diese Säule die Methanollösung des Wirkstoffes langsam hindurchgesaugt. Das Filtrat war hellgelb gefärbt, während die Verunreinigungen in der Säule in zwei schmalen, braun gefärbten Zonen haften blieben. Durch Fällen mit Äther wurde aus der Methanollösung eine Substanz mit dem Wirkungswert 1,4—1,5 mg/kg Ratte gewonnen.

Statt in Methanol konnte auch in wäßriger Lösung die Anreicherung durch Passieren einer Aluminiumoxyd-Säule erzielt werden. Zu diesem Zweck wurde das Aluminiumoxyd in folgender Weise präpariert. 50 g Aluminiumoxyd nach Brockmann wurden mit 100 ccm n/1-Salzsäure übergossen und tüchtig verrührt. Nach dem Absetzen wurde von der überstehenden Flüssigkeit abdekantiert und der Niederschlag solange mit Wasser gewaschen, bis dieses nur schwach sauer reagierte und sich das Aluminiumoxyd klar absetzte. Mit dem so vorbehandelten Material wurde ein Glasrohr von 2 cm Durchmesser bis auf eine Höhe von 15 cm gefüllt. Durch eine derartige Säule wurde jedes Mal eine Lösung von 1 g der mit 2 mg/kg wirksamen Fraktion in 50 ccm Wasser langsam durchgesaugt. Das Eluat war hellgelb gefärbt. Die Säule wurde mit Wasser nachgewaschen, bis dieses farblos ablief. Die Verunreinigungen blieben in zwei braun gefärbten Zonen haften. Das Eluat wurde i. V. eingeengt und der Rückstand nach Zugabe von Eisessig mit Aceton gefällt. Die Fällung zeigte lufttrocken einen Wirkungswert von 1,4—1.5 mg/kg Ratte.

Wurden je 0,5 g der so gereinigten Fraktion in 5 ccm Wasser gelöst, schwach angesäuert und tropfenweise mit warm gesättigter Reineckesalz-Lösung gefällt, und anschließend die Fällung nach Lösen in Aceton-Wasser und Ansäuern mit Salzsäure zerlegt, so ging beim Schütteln die freie Reineckesäure in die Ätherphase, während

die wäßrige Phase den Wirkstoff enthielt. Wurde letzterer nach dem Einengen auf ein kleines Volumen und nach Zugabe von Eisessig mit Aceton gefällt, so gelang es, den Wirkungswert auf 1,2—1,3 mg/kg Ratte zu steigern.

Analysen

4,010 mg Sbst: 6,295 mg CO_2, 2,605 mg H_2O; 4,605 mg Sbst: 0,6174 ccm N_2 (22°, 721 mm); 18,170 mg Sbst.: 4,415 mg $BaSO_4$, 13,813 mg Sbst.: 0,108 mg Rückstand.

$C_{34}H_{58}O_{18}N_{10}S$ (936) Ber. C 43,58 H 7,27 N 14,97 S 3,42
Gef. „ 43,24 „ 7,35 „ 14,87 „ 3,36 (Rückstd. 0,58%).

Reineckat

$C_{38}H_{78}O_{18}N_{17}S_5Cr$ Ber. C 35,85 H 6,13 N 18,71 Cr 4,09
Gef. „ 36,18 „ 5,88 „ 19,04 „ 4,50.

Pikrat

$C_{40}H_{71}O_{25}N_{13}S$ Ber. C 41,21 H 6,09 N 15,62 S 2,75
Gef. „ 41,96 „ 5,67 „ 15,59 „ 2,44.

Molgew.: 0,848 g Subst. in 15 g Wasser. $\Delta = 0{,}113°$.
Ber. M 936, Gef. M 925.

Formoltitration. 2 g Viscotoxin wurden in Wasser gelöst, die Lösung gegen Lackmus neutralisiert, filtriert und auf 45 ccm aufgefüllt. 20 ccm dieser Lösung wurden mit 80 ccm 36proz. Salzsäure 12 Stunden stehen gelassen und dann 6 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die sehr dunkle Lösung wurde in einer Schale auf dem Wasserbad bis zur Sirupdicke eingeengt, erneut mit Wasser aufgenommen und nochmals eingedampft. Der verbliebene Rückstand wurde schließlich in Wasser gelöst, filtriert und wieder auf das Volumen von 20 ccm gebracht. 20 ccm der Ursprungslösung und diese Lösung wurden mit je 4 ccm 2/n-Bariumchlorid und danach mit 20 ccm n/3-Silbernitrat versetzt. Je 10 ccm des Filtrates beider Lösungen wurden gegen Phenolphthalein titriert (a). Alsdann wurden 10 ccm neutralisierter Formollösung zu dieser Lösung hinzugefügt und mit n/10-Natronlauge bis zum Auftreten einer deutlich roten Farbe weiter titriert (b).

Ursprungslösung a) 8,30 ccm b) 0,60 ccm
Behandelte Lösung a) 16,20 ccm b) 2,40 ccm.

Der Verbrauch an Lauge ist demnach im Fall IIb deutlich größer als im Fall Ib. Es hat also eine Zunahme der nach Zugabe von Formol titrierbaren Carboxylgruppen stattgefunden. Mithin ist eine Spaltung der Peptidbindungen erfolgt.

Selendehydrierung des Viscotoxins

8 g Viscotoxin wurden in einem länglichen Kolben aus schwer schmelzbarem Glas mit 16 g frisch gefälltem roten Selen innig gemischt und diese Mischung mit einer 1 cm hohen Selenschicht bedeckt. Das Kölbchen war mit einem eingeschliffenen Steigrohr versehen. Es wurde im Sandbad in der Weise erhitzt, daß die Temperatur in den ersten zwei Stunden 140—160° betrug und diese dann rasch auf 320—340° gesteigert. Nach etwa 50stündigem Erhitzen hatte die Gasentwicklung aufgehört. Während des Versuches setzten sich im Kühlrohr reichliche Mengen eines Sublimates ab, das als *Ammoncarbonat* identifiziert wurde. Das Reaktionsgemisch wurde mit Äther und anschließend mit Benzol extrahiert. Die einzelnen Phasen wurden mehrfach mit salzsäurehaltigem Wasser geschüttelt; die von Basen befreite Ätherphase zeigte eine schwache, aber deutlich erkennbare violettblaue Fluoreszens, die sich nach Zugabe von Alkali beim Stehen an der Luft verstärkte, ein Hinweis dafür, daß in der

ausgeschüttelten Ätherlösung noch ein Dehydrierungsprodukt von Phenolcharakter vorhanden war, dessen Isolierung uns wegen der allzu geringen Menge nicht gelang.

Die wäßrige, den basischen Anteil enthaltende salzsaure Ausschüttelung wurde stark alkalisch gemacht und wiederholt mit Äther ausgeschüttelt. Der abgetrennte und über Natriumsulfat getrocknete Äther hinterließ ein gelbes Öl von deutlichem Pyridingeruch, das zwischen 110 und 115° destillierte. Die Anwesenheit von Pyridin gab sich einmal durch die Farbreaktion mit Anilin und Bromcyan zu erkennen, zum anderen durch die Darstellung einer Reihe charakteristischer Salze.

1. *Goldsalz*, Schmp. bei 304°.

$C_5H_5NHAuCl_4$ Ber. C 14,38 H 1,43 N 3,16
Gef. „ 14,53 „ 1,65 „ 2,89.

2. *Quecksilbersalz*, Schmp. 178°; 3. *Platinsalz*, Schmp. 236°.

Durch tagelanges Extrahieren des im Selendehydrierungskölbchen befindlichen Rückstandes mit Äther, mit Aceton, mit Dioxan und schließlich mit Benzol gelang es noch einen weiteren Anteil herauszulösen, der nach dem Verdampfen der einzelnen Lösungsmittel in öliger Konsistenz zurückblieb. I. V. destilliert, lieferte eine Probe auf Zusatz von ätherischer Pikrinsäurelösung ein gelbrotes, halbfestes Pikrat, das auch nach längerem Stehen nicht fest wurde. Zur Reinigung lösten wir das Destillat in Aceton und ließen die Lösung eine 10 cm hohe Säule von Aluminiumoxyd nach Brockmann passieren, wobei Spuren von Selen und Begleitsubstanzen in der Säule haften blieben, während das Eluat selbst hellgelb gefärbt war. Nach dem Abdunsten des Lösungsmittels hinterblieb ein gelbliches Öl, das bei 141°/12 mm überging und beim Stehen zu weißgelben Kristallblättchen erstarrte. Zur näheren Charakterisierung wurden diese in Äther gelöst und mit einer ätherischen Pikrinsäurelösung im Überschuß versetzt. Nach kurzer Zeit bildeten sich rötlichgelbe Kristallnadeln, deren Schmp. lufttrocken zwischen 118—119° lag und die aus Grund des Analysenergebnisses ein *Dimethylnaphthalin-pikrat* darstellten.

$C_{18}H_{15}O_7N_3$ Ber. C 56,10 H 4,15 N 10,90
Gef. „ 56,22 „ 4,23 „ 10,92.

Nachweis von Glucuronsäure im Hydrolysat des Wirkstoffes

Wurde die wäßrige Lösung des reinen Wirkstoffes mit 0,5 proz. Salzsäure 30 Minuten lang im siedenden Wasserbad erhitzt, so erfolgte auf Zugabe Fehlingscher Lösung eine glatte Reduktion.

Das Hydrolysat wurde mit Bariumhydroxyd in geringem Überschuß versetzt, wobei sich das Bariumsalz der Glucuronsäure abschied. Es wurde gesammelt, mit Schwefelsäure zerlegt und in die Lösung der freien Säure Brucin eingetragen. Das Gemisch wurde eine halbe Stunde am Rückflußkühler erhitzt. Nach dem Erkalten wurde von dem überschüssigen Brucin abfiltriert, das Filtrat eingeengt und mit der doppelten Menge Aceton versetzt. Nach einigen Tagen schied sich das Brucinsalz in flachen Täfelchen ab. Es wurde durch Umlösen aus wenig heißem Wasser und Verreiben mit Aceton gereinigt und besaß alsdann lufttrocken den Schmp. 173°.

$C_{29}H_{36}O_{11}N_2$ Ber. C 59,18 H 6,16
Gef. „ 56,80 „ 6,47.

Zu einer weiteren Probe der wäßrigen Lösung der Säure wurde *Cinchonin* bis zur schwach alkalischen Reaktion hinzugegeben und das Gemisch einige Zeit auf dem Wasserbad erhitzt. Beim Erkalten fiel das überschüssige Cinchonin aus und wurde abfiltriert. Aus dem eingeengten Filtrat kristallisierte beim Stehen das *Cinchoninsalz*, das nach mehrmaligem Umlösen aus Alkohol den Schmp. 202° besaß. Nach den Literaturangaben liegt der Schmp. bei 204°.

Das Verhalten der Aminosäuren gegenüber Natriumchlorit und ihre quantitative Desaminierung mit Hypochlorit

Von *Theodor Wieland, Curt Vogelbach* und *Hans-Joachim Bielig*

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie)

Mit 1 Figur im Text

[Eingelaufen am 20. September 1948]

Von den Sauerstoffsäuren des Chlors waren die chlorige Säure und ihre Salze bisher am wenigsten leicht zugänglich und sind daher am unvollständigsten untersucht worden[1]). Die zu Bleichzwecken entwickelte technische Darstellung des Natriumchlorits[2]), $NaClO_2$, welche die Chlorite zu wohlfeilen Präparaten gemacht hat, veranlaßte uns, im Rahmen des Studiums seiner Oxydationswirkung auf organische Substanzen auch die Umsetzung mit Aminosäuren genauer zu untersuchen.

Im allgemeinen spalten anorganische Oxydationsmittel, soweit sie Aminosäuren überhaupt angreifen, die Bindung zwischen Aminogruppe und Kohlenstoffatom. In welcher Weise die beiden Spaltstücke weiter verändert werden, hängt ab von der Art und Menge des Oxydationsmittels und von den Reaktionsbedingungen. In zahlreichen Arbeiten wird das Auftreten von Ammoniak beschrieben. So beobachtete bereits Liebig[3]) 1849, daß Leucin von *Bleidioxyd* in neutraler Lösung zu Ammoniak, „Butyraldehyd" und wenig Valeronitril oxydiert wird. Alanin gibt in ähnlicher Weise Ammoniak, Acetaldehyd und CO_2[4]). Bei der Einwirkung von *Wasserstoffperoxyd* reagieren, wie Dakin[5]) fand, Glycin, Alanin und Leucin in neutraler Lösung unter der katalytischen Wirkung von Fe-II-Salz bei Raumtemperatur zu Ammoniak, CO_2 und dem um 1 C-Atom ärmeren Aldehyd. Aus Asparaginsäure bildete sich neben Ammoniak Essigsäure, aus Glutaminsäure auch ohne die Gegenwart von Fe^{++}, Bernsteinsäure[6]). Die Ammoniakausbeute, von Neuberg[7]) unter gleichartigen Bedingungen am Serin gemessen, betrug nur 40% der zu erwartenden. Auch bei Ersatz des Fe^{++} durch ein System aus bestimmten Phenolen und Wolframat verläuft die Dehydrierung durch H_2O_2 nicht quantitativ[8]). Verwendet man Wasserstoffperoxyd in saurer Lösung[9]) oder in alkalischem Medium[10]), so findet man höchstens 60% des Stickstoffs aliphatischer Aminosäuren als Ammoniak.

Weit höhere NH_3-Ausbeuten werden bei der Oxydation mit alkalischer Kalium-Permanganatlösung erzielt: Glycin, Alanin und Tyrosin liefern über 90%, Cystin

[1]) Zusammenfassung über Eigenschaften und Reaktionen der Chlorite bei G. R. Lévy, Atti Congr. Naz. Chem. pura appl. 5, 382 (1936); C. 1936. I. 525, 3658.
[2]) Mathieson Alkali Works, New York, E. P. 495 289, C. 1939, I, 1823.
[3]) A. 70, 313 (1849).
[4]) A. Strecker, A. 75, 27 (1850).
[5]) J. biol. Chem. 1, 171 (1905/06).
[6]) H. D. Dakin, J. biol. Chem. 5, 409 (1909).
[7]) Bio. Z. 20, 531 (1909).
[8]) B. C. Klar, Ind. Chem. Soc. 14, 38 (1937); C. 1937, II, 4306.
[9]) F. Fichter u. F. Kuhn, Helv. 7, 167 (1924).
[10]) E. Negelein, Bio. Z. 142, 493 (1923).

77%[11]), Glutaminsäure 96%, Arginin 54%, Lysin 41% und Asparagin 54%[12]). Wird die Oxydation mit 1/7 bis 1/10 der zur vollständigen Oxydation nötigen Permanganatmenge ausgeführt, so geben Glycin, Leucin und Serin quantitative Ammoniakausbeute, aromatische Aminosäuren und Cystin liefern zu geringe Werte, beim Histidin stammt die Hauptmenge des NH_3 aus dem Ring[13]). Nach Abderhalden und Komm[14]) werden Glycin, Alanin, Leucin und Tyrosin von neutraler Zink-Permanganatlösung vollständig desaminiert[15]).

Ausgehend von einer Beobachtung von Kraut und Hartmann[16]) studierten Herbst und Clarke[17]) die Dehydrierung von α-Aminosäuren durch überschüssiges *Silberoxyd* in heißer wäßriger Lösung. Auch hierbei bildete sich NH_3 neben CO_2 und den Aldehyden, die z. T. zu den Säuren weiter oxydiert wurden. Die NH_3-Ausbeute war bei Glycin und Phenylalanin fast quantitativ, bei Alanin und Leucin indessen nur 60—85%. Sehr viel schlechter verläuft die Reaktion in alkalischer Lösung.

Ozon spaltet in neutralem Phosphatpuffer aliphatische Aminosäuren unter geringer Ammoniakentwicklung, während aromatische und heterocyclische Aminosäuren am Kern angegriffen und zu Huminen verändert werden[18]).

Aus neuerer Zeit stammt eine Untersuchung von Lang[19]), die die Einwirkung alkalischer *Persulfatlösung* auf Aminosäuren zum Gegenstand hat. Die sauren und neutralen aliphatischen Aminosäuren werden in der Hitze quantitativ desaminiert, während aus den aromatischen Aminosäuren höchstens 62% des erwarteten Ammoniaks erhalten werden. Die basischen Aminosäuren lieferten uneinheitliche Ergebnisse.

Perjodat oxydiert nur Aminosäuren, bei denen der Aminogruppe eine Hydroxylgruppe benachbart ist, nach Art einer Glykolspaltung[20]). In alkalischer Lösung ist die NH_3-Bildung z. B. bei Serin und Threonin quantitativ[21]).

Jodsäure wirkt nur in stark saurer Lösung und nur auf Cystin, Tyrosin und Tryptophan, in unbekannter Weise, ein[22]). *Chlorat* reagiert erst, wenn es mit OsO_4 aktiviert ist und zwar bildet sich dann beim Erhitzen in neutraler oder bicarbonat-alkalischer Lösung aus Alanin neben NH_3 Acetaldehyd, aus Glycin Oxalsäure[23]). Die Reaktion ist wegen des Entstehens von Huminen nicht quantitativ.

Natriumchlorit und Aminosäuren

Das leicht wasserlösliche, farblose Natriumchlorit[24]) ist nur in Gegenwart von Alkali beständig[25]). Durch Säuren zerfällt es in ClO_2 und Chlorsäure, ebenso wirkt Licht ClO_2-abspaltend. Ist, wie häufig in technischen

[11]) W. Denis, J. biol. Chem. **9**, 365; **10**, 73 (1911).
[12]) C. S. Robinson, O. B. Winter u. E. J. Miller, J. Michigan. Agric. Coll. exper. State 19. Chem. Trade Journ. **70**, 65 (1921).
[13]) F. Lieben u. B. Bauminger, Bio. Z. **261**, 387 (1933).
[14]) H. **143**, 128 (1925).
[15]) Oxydation von Aminosäureestern mit $KMnO_4$ in Aceton, S. Goldschmidt u. J. Beuschel, A. **447**, 197 (1926).
[16]) A. **133**, 101 (1865).
[17]) J. biol. Chem. **104**, 769 (1934).
[18]) C. Harries u. K. Langheld, H. **51**, 373 (1907); F. Bergel u. K. Bolz, H. **220**, 20 (1933).
[19]) K. Lang, H. **241**, 68 (1936).
[20]) B. H. Nicolet u. L. A. Shinn, Amer. chem. Soc. **61**, 1615 (1939).
[21]) B. H. Nicolet u. L. A. Shinn, J. biol. Chem. **142**, 139 (1942).
[22]) R. J. Williams u. M. A. Woods, Amer. chem. Soc. **59**, 1408 (1937).
[23]) K. A. Hofmann, O. Ehrhart u. O. Schneider, B. **47**, 1657 (1913).
[24]) Die Präparate verdanken wir dem Werk Frankfurt a. M.-Griesheim der chem. I. G.
[25]) M. C. Taylor u. Mitarb., Ind. Eng. chem. Analyt. Edit. **32**, 899 (1940).

Präparaten Hypochlorit zugegen, so entsteht unter den genannten Bedingungen fernerhin Chlor[26]). Wir haben deshalb das Verhalten von Aminosäuren gegen Natriumchlorit in alkalischer Lösung untersucht.

Dabei kam ein technisches Präparat von Natriumchlorit zur Anwendung, dessen analytische Zusammensetzung von der Lieferfirma folgendermaßen angegeben war: 97.5% $NaClO_2$, 1,6% NaCl, 0,5% NaOH, 0,4% H_2O.

Erhitzt man Aminosäuren in 1 n-alkalischer Lösung mit Natriumchlorit, so entwickelt sich Ammoniak.

Zur Bestimmung des entbundenen Ammoniaks haben wir eine Mikrokjeldahl Apparatur benutzt, bei der das Ammoniak unter Konstanthaltung des Flüssigkeitsvolumens mit Wasserdampf abdestilliert wurde. In einem normalen Ansatz befanden sich 10 mg Aminosäure, 5 ccm 1 n-Natronlauge und 0,5 g Natriumchlorit. Bei lebhafter Dampfentwicklung wurde, nachdem der Siedering im Kühler angekommen war, 15 Minuten lang destilliert. Vorgelegt waren 10—15 ccm n/100-HCl. Als Indikator bewährte sich ein Gemisch aus 1 Teil wäßriger 0,1proz. Methylenblaulösung und 4 Teilen 0,1proz. alkoholischer Methylrotlösung[28]).

Die dabei aus Monoamino-monocarbonsäuren, Monoamino-dicarbonsäuren, Diamino-monocarbonsäuren, einigen Peptiden sowie andern N-haltigen Verbindungen als NH_3 abgespaltenen Stickstoffmengen sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1

Substanz	% des Ges.-N als NH_3 gefunden	Substanz	% des Ges.-N als NH_3 gefunden
Glycin	5	Diglycyl-glycin	14
Alanin	15	Lysin	70
Valin	10	Histidin	35
Tyrosin	12	Arginin	26
Serin	98	β-Alanin	10
Threonin	90	Guanidin	33
Cystin	15	Kreatin	93
Methionin	10	Sarkosin	53
Glutaminsäure	100	Harnstoff	8
Asparginsäure	3	Ammoniumchlorid	100
Glycyl-glycin	11		

In 1 n-Lauge wird nur aus Glutaminsäure und den Oxyaminosäuren der α-Aminostickstoff quantitativ aboxydiert, während die übrigen Aminosäuren weitgehend beständig sind. Die Iminosäuren Prolin und Oxyprolin geben nur wenig einer flüchtigen Base ab, die nicht identi-

[26]) G. R. Levy, Gazz. 52, 417 (1922).
[27]) W. C. Bray, Z. anorg. Chem. 48, 333 (1906).
[28]) E. J. Conway u. A. Byrne, Biochem. Journ. 27. 428 (1939).

fiziert wurde. Von den basischen Aminosäuren liefert Lysin wesentlich mehr als 1 Mol Ammoniak, was auf eine zusätzliche Oxydation der ε-Aminogruppe zurückzuführen ist. Harnstoff und Guanidin verlieren einen Teil ihres Stickstoffs unter den Versuchsbedingungen wahrscheinlich durch Hydrolyse. Beim Kreatin wird sich der gefundene Wert zusammensetzen aus hydrolytisch aus der Guanidogruppe abgespaltenem Ammoniak und aus Methylamin, das dem bei der alkalischen Spaltung entstandenen Sarkosin entstammt. Sarkosin gibt nämlich über die Hälfte seines Stickstoffs in Form einer flüchtigen Base ab.

Auffallend ist der große Unterschied in der Ammoniakausbeute aus *Glutaminsäure* und *Asparaginsäure*. Beim Versuch unter Ausnutzung dieser Differenz Glutaminsäure neben Asparaginsäure quantitativ zu bestimmen, zeigte sich zu unserer Überraschung, daß aus dem Gemisch beider Säuren der gesamte Stickstoff als Ammoniak entbunden wurde, d. h. daß in Gegenwart der C_5-Säure auch die C_4-Säure vollständig desaminiert wird. Als Grund hierfür dachten wir zunächst an eine Reaktion von Ketoglutarat, dem mutmaßlichen Desaminierungsprodukt der Glutaminsäure, mit Asparaginsäure. Dabei hätte nach Art einer Umaminierung die Aminogruppe der Asparaginsäure auf das C_5-Gerüst übertragen und in Form von Glutaminsäure oxydativ desaminiert werden können. Dieser Gedanke wurde jedoch fallen gelassen, als man fand, daß außer Ketoglutarsäure auch andere Ketosäuren wie Oxalessigsäure und Brenztraubensäure, wenn sie in kleinen Mengen den Ansätzen zugesetzt werden, die Desaminierung der Asparaginsäure ebenso erleichtern, wie die aller anderen Aminosäuren. In Tab. 2 sind die NH_3-Ausbeuten aus je 10 mg Aminosäure in Gegenwa t von 10 mg Ketoglutarat bei Oxydation mit 0,5 g Chlorit zusammengestellt.

Tab. 2

Aminosäure	% N des Ges.-N als NH_3	Aminosäure	% N des Ges.-N als NH_3
Glycin	101; 102	Cystein	77
Alanin	101; 103	Methionin	101
Leucin	100	Glutaminsäure	99 ; 98
Phenylalanin	99; 101	Asparaginsäure	99 ; 100
Tyrosin	93; 97	Arginin	25,5; 26
Serin	100; 101	Lysin	65
Threonin	99; 99	Histidin[29])	33
Tryptophan	48		

Um einen Einblick in den Mechanismus der beschleunigenden Wirkung von α-Ketosäuren zu erhalten, wurde die Kinetik der Desaminierungsreaktion bei Glutaminsäure untersucht. Dabei zeigte sich, wie aus

[29]) Statt 10 mg α-Ketoglutarsäure wurden 20 mg Glukose zugesetzt.

Fig. 1 hervorgeht, daß die Oxydationsgeschwindigkeit nach Art einer autokatalytisch verlaufenden Reaktion mit der Zeit zunimmt, d. h. daß der Reaktionsbeschleuniger, vermutlich die durch Desaminierung entstehende Ketosäure, im Verlauf der Oxydation in wachsender Menge gebildet wird. Offenbar ist das bei den schlecht desaminierbaren Aminosäuren nicht der Fall, solange die Aminosäurekonzentration einen bestimmten Mindestwert nicht überschreitet. Erhöht man diese, so beobachtet man in der Tat auch bei schlecht desaminierbaren Aminosäuren quantitative Reaktion. Dabei fanden wir für jede Aminosäure eine charakteristische Konzentration, unterhalb der die Oxydation nur sehr langsam erfolgt, nach deren Überschreitung aber rasche quantitative Desaminierung zu beobachten ist. Diese Grenzkonzentration beträgt z. B. für Glutaminsäure 2 mg/ccm, für Asparaginsäure 8—10 mg/ccm und für Glycin 25—30 mg/ccm. Der Unterschied hängt wohl mit der Beständigkeit der Primärdehydrierungsprodukte in heißem Alkali zusammen. Dabei ist Ketoglutarat beständiger als Oxalacetat, das in Oxalat und Acetat zerfällt, oder Glyoxalat, das z. B. der Cannizzaroschen Reaktion unterliegen kann.

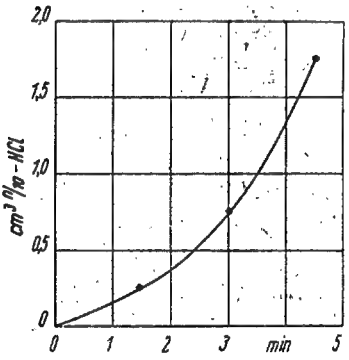


Fig. 1
Zeitlicher Verlauf der NH_3-Bildung beim Kochen von Glutaminsäure mit Chlorit.

Die offensichtliche Notwendigkeit eines Reduktionsmittels, das von Chlorit leichter oxydiert wird als die Aminosäure, veranlaßte uns weitere organische und anorganische Substanzen auf ihre beschleunigende Wirkung zu prüfen. Einen kräftigen Effekt zeigten l-Ascorbinsäure, Hydrochinon, Paraldehyd, Ferrocyanid und vor allem Glukose, während Formiat und Sulfit die Desaminierung völlig unterbanden. Schon 10 mg Natriumsulfit bewirkten bei dem großen Überschuß von 0,5 g Natriumchlorit ein Ausbleiben der Ammoniakentwicklung aus der äquiv. Menge Glutaminsäure, die im gleichen Ansatz ohne Sulfit und ohne fremden Beschleuniger quantitativ desaminiert wird. Daraus muß man schließen, daß *Natriumchlorit* in alkalischer Lösung in der Hitze *auf Aminosäuren* überhaupt *nicht einwirkt.* Das eigentliche Oxydationsmittel, welches in unseren Versuchen zur Abspaltung von Ammoniak aus Aminosäuren führte, und mit Sulfit so leicht und schnell abreagiert, ist vielmehr *Hypochlorit*, dessen Wirkung auf Aminosäuren seit Langheld bekannt ist[30]).

[30]) K. Langheld, Ber. 42, 2360 (1909).

In unserem Fall schien dieser Verdacht, der wegen der Notwendigkeit einer so unverhältnismäßig großen Chloritmenge schon bald aufgetaucht war, anfänglich nicht berechtigt, da nach den Angaben der Lieferfirma das verwendete Chloritpräparat kein Hypochlorit enthalten sollte. Weiterhin hatten wir, gefunden, daß schon ¼ der auf 10 mg Glutaminsäure berechneten Sulfitmenge (2,5 mg) die Oxydation durch 0,5 g Chlorit völlig hemmte. Diese kleine Menge hätte bestenfalls 1 mg Hypochlorit unschädlich machen können, die zwar der Analyse entgangen sein konnte, zur Oxydation von 10 mg Glutaminsäure aber unserer Meinung nach nicht ausreichte. Später zeigte sich jedoch, daß eine viel kleinere als die berechnete Hypochlorit-Menge ausreicht, um die oxydative Desaminierung von Glutaminsäure in Gegenwart von Chlorit in Gang zu bringen. Dabei wird zunächst aus der Aminosäure durch Hypochloritspuren wenig eines Oxydationsprodukts, wahrscheinlich der entsprechenden α-Ketosäure gebildet, die nun offenbar ihrerseits Chlorit zu neuem Hypochlorit reduziert und zwar in der Weise, daß je 1 Mol Ketosäure mehr als 1 Mol Hypochlorit entsteht. Dann verläuft die Oxydation als Kettenreaktion:

1. Glutaminsäure + ClO^- → Ketosäure + Cl^- + NH_3
2. Ketosäure + n ClO_2^- → n ClO^- + Oxydationsprodukte.

Eine genaue Analyse des verwendeten Chloritpräparats ergab nun auch, daß darin 0,11 % Hypochlorit enthalten waren (siehe die nachfolgende Abhandlung) und daß wir in unseren Ansätzen daher neben 0,5 g Chlorit 550 γ Hypochlorit zur Anwendung brachten. Bei Glutaminsäure und den leicht oxydablen Aminosäuren wird durch den minimalen Hypochloritgehalt des Chloritpräparates die Kettenreaktion in Gang gesetzt, während bei den langsam reagierenden die Kette vorzeitig abbricht, weil die Konzentration des primär entstehenden Ketosäureanions infolge der durch Alkali bedingten Nebenreaktionen sehr rasch abnimmt. Deshalb laufen hier die Oxydationsreaktionen nur schnell ab, wenn man größere Mengen der primären Reaktionsprodukte oder andere geeignete Reduktionsmittel als Beschleuniger von vornherein zugibt oder deren Menge dadurch vermehrt, daß man die Aminosäure in einer höheren als der Grenzkonzentration mit Chlorit zum Umsatz bringt.

Quantitative Desaminierung von Aminosäuren mit Hypochlorit

Langheld fand, daß primär bei der Einwirkung von Natriumhypochlorit auf Aminosäuren in ganz schwachem Alkali unbeständige, am Stickstoff chlorierte Verbindungen entstehen, die zu NH_3, CO_2 und Aldehyd zerfallen. Die N-Chlorierung verläuft momentan und quantitativ schon in der Kälte. Dakin[31]) zeigte, daß bei An-

[31]) Biochem. Journ. **10**, 319 (1916); **11**, 79 (1917).

wendung zweier Atome Chlor (z. B. in Form von Chloramin T) über die N-Dichlor-aminosäuren unter CO_2-Abspaltung Nitrile gebildet werden. Fürth und Mitarb.[32]) bestimmten für einige Aminosäuren die Ammoniakausbeute nach Einwirkung von 1,5 Mol Hypochlorit in etwa n/10-Lösung in der Kälte, wobei zwischen 10 und 50% Ammoniak erhalten wurden. Bei Anwendung von 2 Mol Hypochlorit nahm die Ammoniakausbeute ab, weil Ammoniak vom überschüssigen Hypochlorit teilweise zu Stickstoff oxydiert würde. Ähnliche NH_3-Mengen erhielt auch Lieben[13]), der Aminosäuren mit 1/7 bis 1/4 der zur vollständigen Oxydation nötigen Hypochloritmenge einen Tag bei Zimmertemperatur stehen ließ und dann das Ammoniak über Magnesiumoxyd abdestillierte.

Bei unserer Arbeitsweise (1 n-Alkali, Siedehitze) erleidet die primär entstehende N-Chlor-aminosäure sicher momentan HCl-Abspaltung zur Iminosäure. Wright[33]) und Norman[34]) haben bereits in der Kälte keine N-Chlorierungsprodukte bei der Reaktion von Aminosäuren mit Hypochlorit in alkalischer Lösung beobachtet. Die Iminosäure wird sodann in der Hitze schneller hydrolytisch zu Ketosäure + NH_3 gespalten, als unter CO_2-Abgabe zu Aldehyd + NH_3; das gebildete Ammoniak wird durch den Dampfstrom sofort entfernt und so vor der Weiteroxydation geschützt. Die Ketosäuren, die von Hypochlorit offenbar nur langsam angegriffen werden, erleiden durch die alkalische Reaktion die oben besprochenen mehr oder weniger raschen Umwandlungen.

Wir haben bei einer Reihe von α-Aminosäuren mit Hypochlorit eine Amino-N-Bestimmung durchgeführt. Dazu ließen wir in die siedende 1 n-alkalische Lösung von etwa 2 mg verschiedener Aminosäuren in 6 ccm Flüssigkeit 3 mg Hypochlorit in 2 ccm 2 n-Natronlauge während 1 Min. zutropfen und bestimmten nach 15 Min. langer Destillation in der mit n/100-Säure beschickten Vorlage das gebildete Ammoniak durch Titration. Es ergaben sich die in Tab. 3 verzeichneten Werte.

Tab. 3

Aminosäure	Einwaage mg	ccm n/100 HCl	%N Gef.	%N Ber.
Glycin	1,994	2,71	18,96	18,66
Alanin	2,027	2,24	15,46	15,72
Valin	2,032	1,71	11,80	11,96
Serin	2,067	1,97	13,32	13,33
Glutaminsäure	2,034	1,35	9,30	9,52

Lysin erleidet außer an der α- auch an der ε-Aminogruppe eine Desaminierung, die wir aber noch nicht quantitativ gestalten konnten. So gab Lysin-dihydrochlorid nach 15 Min. nur 86% des Gesamt-N als

[32]) O. Fürth, A. Friedrich u. R. Scholl, Bio. Z. 240, 50 (1931).
[33]) Biochem. Journ. 20, 524 (1926).
[34]) ebenda 30, 484 (1936).

NH_3 ab. Beim Histidin erhielten wir, vielleicht durch Nebenreaktion des Imidazolrings, etwas zu hohe Werte.

Ähnliche Ergebnisse wie die in Tab. 3, fanden wir mit 0,5 g eines Chloritpräparates, das die ausreichende Menge von 2,8 % Hypochlorit enthielt, wobei die Oxydation ohne Zusatz eines Beschleunigers quantitativ erfolgte.

Frl. H. Fremerey danken wir für die eifrige Hilfe bei der Ausführung der Versuche.

Eine acidimetrische Methode zur Bestimmung von Hypochlorit und ihre Anwendung bei der Analyse von Chloritpräparaten

Von *Hans-Joachim Bielig, Curt Vogelbach* und *Theodor Wieland*

(Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie)

mit 2 Figuren im Text

[Eingelaufen am 20. September 1948]

Bei der Untersuchung des Verhaltens von Natriumchlorit gegen α-Aminosäuren in alkalischer Lösung stellten Wieland, Vogelbach und Bielig[1]) fest, daß zwei verschiedene technische Präparate mit ähnlichem Chloritgehalt aus gleichen Mengen Glycin und einigen anderen Aminosäuren verschiedene Mengen Ammoniak oxydativ entbinden. Es wurde gefunden, daß dieses Ergebnis auf den unterschiedlichen Gehalt an Hypochlorit zurückzuführen ist, den wir bei der Analyse der benutzten Chloritpräparate (I und II) bestimmt haben.

Von der Herstellerfirma[2]) wurden folgende Zusammensetzungen angegeben: Präparat I 97,5 % $NaClO_2$; 1,6 % NaCl; 0,5 % NaOH; 0,4 % H_2O. Präparat II 81 % $NaClO_2$, weitere Angaben fehlten. Außer den verzeichneten Begleitsubstanzen waren NaClO, $NaClO_3$, aus NaOH gebildetes Na_2CO_3 und evtl. ein unlöslicher Rückstand zu erwarten. Wir haben beide Präparate zur Ermittlung ihres Wassergehaltes über Phosphorpentoxyd und Kaliumhydroxyd bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und analysiert.

Analyse der Natriumchloritpräparate.

Zur Bestimmung von ClO_2' neben ClO_3', ClO' und Cl' sind verschiedene Methoden angegeben worden: 1. Von Lasègue[3]) ein gewichtsanalytisches Verfahren, das die Schwerlöslichkeit des Bleichlorits zur Abtrennung benutzt, in Gegenwart größerer

[1]) A. **561**, 116 (1948).

[2]) Die Präparate verdanken wir dem Werk Frankfurt a. M.-Griesheim, der ehem. I. G. Farbenindustrie AG.

[3]) Bull. (IV), **11**, 884 (1912).

Mengen Cl′ aber versagt, da auch Bleichlorid schwer löslich ist. 2. Die von Carlson und Gelhaar[4]) beschriebene Titration mit Indigolösung. 3. Eine maßanalytische Vorschrift von Foerster und Dolch[5]), die ClO′ mit bicarbonathaltiger As_2O_3-Lösung in der von Mohr[6]) beschriebenen Ausführungsform, und ClO_2' im gleichen Ansatz schwefelsauer iodometrisch[7]) bestimmen läßt. Der ClO_3'-Wert wurde nach Reduktion mit 2-wertigem Eisen und Rücktitration mit Permanganat zusammen mit ClO′ und ClO_3' gefunden und daraus als Differenz ermittelt[8]). Cl′ ist nach Reduktion von ClO′ mit Arsenit fällungstitrimetrisch nach Mohr[9]) in Gegenwart von Calciumcarbonat indirekt erhalten worden. In der zitierten Arbeit[5]) fehlen Angaben über die Zusammensetzung der Titrieransätze. Aznárez und Vinadé[10]) bestimmen ClO′ ebenfalls nach Reaktion mit Arsenit in bicarbonatalkalischer Lösung und zwar durch potentiometrische Titration. Der Gehalt an ClO_2' wird nach Umsatz mit natronalkalischem Arsenit durch Rücktitration mit Kaliumbromat in 4proz. Salzsäure ermittelt. Chlorat stört nur dann nicht, wenn die HCl-Konzentration unter 5% liegt und die ClO_3'-Menge kleiner als 1% ist.

Nach kritischer Prüfung der beschriebenen maßanalytischen Verfahren haben wir in Anlehnung an die Angaben von Foerster und Dolch[5]) gearbeitet. Stärkere Änderungen erfuhren: a) die Ausführung der permanganometrischen Chloratbestimmung bei der die Reduktion heiß in CO_2-Atmosphäre erfolgte; b) die Cl′-Bestimmung, bei der an Stelle von Chromat als Indikator nach dem Vorschlag von Lunge und Landolt[11]) Arsenat verwendet wurde und statt Calciumcarbonat $NaHCO_3$. Wir haben den gefundenen Wert dadurch kontrolliert, daß wir die Chlorsauerstoffsäuren mit Fe^{++} zu Cl′ reduzierten und dieses gewichtsanalytisch bestimmten. Zur Sicherung des indirekt ermittelten ClO_3'-Wertes wurde dieser ferner in Anlehnung an die Angaben von Rupp[12]) iodometrisch in salzsaurer Lösung gemessen.

Wir konnten überdies feststellen, daß Chlorit auch in 70° warmer, borsaurer Lösung von Kaliumiodid ohne Beteiligung von Chlorat an der Reaktion reduziert wird, und daß die Umsetzung zwischen ClO_3' und Fe-II-Salz in sehr schwach schwefelsaurer Lösung bei 0° so langsam verläuft, daß praktisch nur ClO_2' reduziert wird. Indessen ergaben derartig ausgeführte Bestimmungen schwankende Werte.

Die Ermittlung des NaOH- und Na_2CO_3-Gehaltes geschah titrimetrisch nach Tillmans und Heublein[13]). Der Carbonatgehalt wurde weiter nach Abrauchen der Substanz mit konz. Salzsäure aus der gefundenen Natriumchlorid-Gesamtmenge errechnet. Nach Lösen der

[4]) Chem. Z. **32**, 633 (1908).
[5]) Z. Elektrochem. **23**, 142 (1917).
[6]) Lehrb. d. Chem.-analyt. Titriermethodik, Braunschweig (1855) S. 323.
[7]) W. C. Bray, Z. physik. Chem. **54**, 576 (1906).
[8]) Vgl. W. Oechsli, Z. Elektrochem. **9**, 807 (1903).
[9]) A. **97**, 335 (1856).
[10]) Ann. fés. y quém. (Madrid) **43**, 311 (1947).
[11]) G. Lunge u. Landolt, Chem. Ind. 8, 340 (1885); vgl. Lunge-Berl, Chem. techn. Untersuchungsmethoden, 7. Aufl., Springer, Berlin (1921).
[12]) Z. analyt. Chem. **55**, 580 (1917).
[13]) Z. Angew. Chem. **24**, 874 (1911).

Chloritpräparate in Wasser, Filtration und Veraschung des Filters wog man die Menge des unlöslichen Rückstandes.

Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die genauen Arbeitsweisen und die gefundenen absoluten Zahlen findet man im Versuchsteil.

Tab. 1. Zusammensetzung der $NaClO_2$-Präparate in %

	Präparat I[14])	Präparat II[14])
$NaClO_2$	97,0	83,0
$NaClO_3$	0,5	2,4
NaClO	0	2,8
NaCl	1,6	6,5
NaOH	0,6	0,6
Na_2CO_3	0	4,6
H_2O	0,3	0,0
Unlösliches	0,0	0,2
Summe	100,0	100,1

Acidimetrische Bestimmung von Hypochlorit mit Glycin.

Mit der von uns gewählten Ausführungsform der arsenometrisch-iodometrischen Bestimmung des Hypochlorit-Gehaltes in den Chloritpräparaten lassen sich noch etwa 0,2 mg NaClO sicher erfassen. Dies entspricht bei einer Einwaage von 40 mg $NaClO_2$-Präparat einem Gehalt von 0,5 % NaClO. Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, lag in dem Präparat I der Gehalt an NaClO unter dieser Grenze. Zu seiner Ermittlung haben wir indessen nicht unsere ursprüngliche Methode an größere Einwaagen angepaßt. Es wurde vielmehr geprüft, ob sich nicht umgekehrt wie bei der von Wieland, Vogelbach und Bielig[1]) angegebenen Ermittlung des Aminosäure-Gehaltes, die in einer Titration des mit überschüssigem Hypochlorit in verd. Natronlauge entbundenen Ammoniaks besteht, Hypochlorit in Gegenwart eines Überschusses an Aminosäure acidimetrisch bestimmen läßt. Wie wir gefunden haben, wird tatsächlich aus Glycin die der folgenden Gleichung entsprechende Menge an Ammoniak durch Natriumhypochlorit auch in Gegenwart von $NaClO_2$ und $NaClO_3$ freigelegt:

$$ClO' + NH_2 - CH_2 - COO' = NH_3 + Cl' + [OHC - COO'].$$

Hierzu müssen bestimmte Bedingungen eingehalten werden, die sich aus dem Verhalten der primär gebildeten Oxydationsprodukte der Aminosäuren gegenüber Chlorit ergeben[1]) und aus der Einwirkung von Hypochlorit auf Ammoniak[15]).

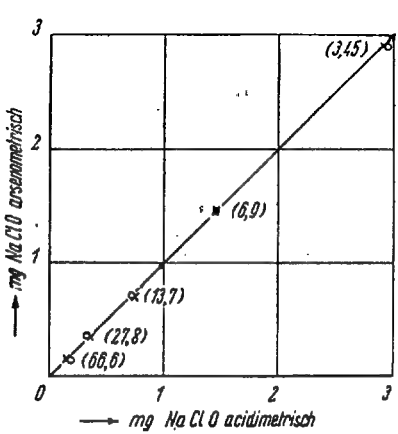
[14]) Die Analysenzahlen beziehen sich beim Präparat I auf die lufttrockene Substanz, bei dem sehr hygroskopischen Präparat II auf scharf getrocknetes Salz.

[15]) F. Raschig, Angew. Chem. **20**, 2065 (1907).

$NaClO_2$ und $NaClO_3$ reagieren mit Aminosäuren in alkalischer Lösung nicht. In Gegenwart von Hypochlorit können indessen die primär entstehenden Oxydationsprodukte der Aminosäuren Chlorit zu Hypochlorit reduzieren. Ob dies der Fall ist, hängt ab von der Konstitution der Aminosäure und von dem Konzentrationsverhältnis gegenüber Hypochlorit. Als Ammoniaklieferant eignet sich am besten Glycin, da dessen primäres Oxydationsprodukt (Glyoxalat) gegen Alkali viel unbeständiger ist, als die Oxydationsprodukte anderer Aminosäuren. Mit Glycin wird kein zusätzliches Hypochlorit aus $NaClO_2$ erzeugt, wenn man dafür Sorge trägt, daß nicht mehr als 25 mg Glycin in 1 ccm der Reaktionslösung enthalten sind. Wir lassen die zu analysierende Lösung nach und nach zur alkalischen Glycinlösung zutropfen, damit vermieden wird, daß Ammoniak durch Hypochlorit zu Stickstoff oxydiert wird[15]). Chlorit reagiert mit Ammoniak unter diesen Bedingungen nicht[16]).

Zur quantitativen Umsetzung ist ein mindestens 50proz. molarer Überschuß an Glycin (Molgew. 75,07) gegenüber Natriumhypochlorit (Molgew. 74,45) erforderlich. Da die Methode genügend empfindlich ist, haben wir unsere Ansätze auf 15 mg Glycin, d. h. auf Natriumhypochlorit-Mengen von maximal 7,5 mg beschränkt. Die Analysenfehler liegen dabei so niedrig, daß sich noch 100 γ Hypochlorit gut bestimmen lassen. Es ist indessen durchaus möglich, durch Erhöhung der Glycinkonzentration auch größere Mengen an Hypochlorit quantitativ zu erfassen. Das verwendete Glycinpräparat soll nicht mehr als 0,02 mg NH_3 je 15 mg beim Kochen mit 5 ccm 2n-Natronlauge abgeben.

Fig. 1. Vergleich der acidimetrischen mit der arsenometr.-jodometrischen Bestimmung von NaClO.



Absz. 0—0 NaClO, ohne $NaClO_2$

x—x NaClO + $NaClO_2$; eingeklammerte Zahlen geben das jeweilige Verhältnis von $NaClO_2$: NaClO an.

Zur Ammoniakbestimmung wurde die in Fig. 2 skizzierte Mikro-Kjeldahlapparatur benutzt (vgl. im Versuchsteil). Sie entspricht in ihrem Bau der von Wieland, Vogelbach und Bielig[1]) bei der Aminosäurebestimmung gebrauchten. Mit der im Versuchsteil beschriebenen Methode wurde der Gehalt verschiedener Verdünnungen einer aus Chlor und Na-

[16]) A. Schleicher u. W. Wesly, Z. analyt. Chem. 65, 407 (1924/25).

tronlauge bereiteten NaClO-Lösung bestimmt, deren Gehalt wir zuvor mit der früher zur Analyse der Chloritpräparate verwandten arsenometrisch-iodometrischen Methode festgestellt hatten.

Aus Fig. 1 geht die gute Übereinstimmung zwischen der letztgenannten Methode und der neuen acidimetrischen Hypochloritbestimmung hervor. Dabei läßt sich Hypochlorit auch dann noch sauber erfassen, wenn es neben einer mehr als 60fachen Menge an Chlorit vorliegt. In dem $NaClO_2$-Präparat I haben wir auf Grund des aus Glycin entbundenen Ammoniaks mit diesem Verfahren einen Gehalt von 0,1 % NaClO ermittelt, der an der entsprechenden Stelle in Tab. 1 einzufügen ist.

Beschreibung der Bestimmungen

I. Acidimetrische Bestimmung von Natriumhypochlorit.

1. *Methode.* Die vorliegende Substanz, die ClO' allein oder in Gegenwart von ClO_2', ClO_3' und Cl' enthalten kann, wird in so viel Wasser gelöst — bzw. die neutrale oder alkalische Lösung soweit verdünnt — daß der Gehalt an Natriumhypochlorit etwa 2 mg je 1 ccm beträgt (Ermittlung durch arsenometrisch-iodometrische Titration oder durch einen Vorversuch). Die Lösungen müssen stets frisch bereitet und dunkel gehalten werden. Grün verfärbte Lösungen sind zur Analyse unbrauchbar.

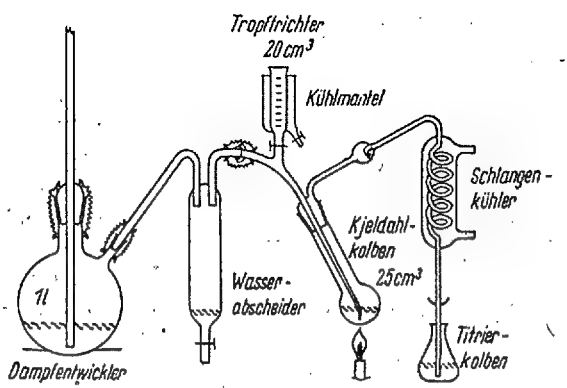


Fig. 2
Apparatur zur acidimetrischen Bestimmung von Hypochlorit.

Im Kölbchen der Mikro-Kjeldahlapparatur (Fig. 2) löst man 15 mg Glycin in 5 ccm 2n-Natronlauge und erhitzt bei gleichzeitiger Wasserdampfdestillation zum Sieden. In den mit Eis gekühlten Tropftrichter gibt man wenigstens 5 ccm der genau abgemessenen Analysenlösung und läßt diese so zur Aminosäurelösung bei reduziertem Wasserdampfstrom zutropfen, daß nicht mehr als 1 ccm in einer Minute zufließt. Durch Variieren der Flammengröße sorgt man dafür, daß das Volumen im Kjeldahlkölbchen annähernd konstant bleibt. Ist die gesamte Lösung zugeflossen, so spült man mit 2 ccm Wasser nach und destilliert noch 1 bis 2 Min. Vorgelegt werden 20 ccm n/100-Salzsäure, deren Überschuß man heiß mit n/100-Natronlauge zurücktitriert. Als Indikator verwendet man ein Gemisch aus einem Teil wäßriger 0,1proz. Methylen-

blaulösung und vier Teilen 0,1proz. alkohol. Methylrotlösung[17]). 1 ccm n/100-HCl entspricht 0,745 mg NaClO.

Unsere Kontrollbestimmungen ergaben die in folgender Tabelle verzeichneten Werte (Mittelwerte aus je 2 bis 3 Bestimmungen; Glycin-Leerwert abgezogen).

mg NaClO in 5 ccm 2n-NaOH	Ohne Zusatz von $NaClO_2$		Mit je 10 mg $NaClO_2$		
	ccmn/100-HCl verbraucht	mg NaClO gef.	ccmn/100-HCl verbraucht	mg NaClO gef.	$NaClO_2$:NaClO
8,44	11,63	8,65	—	—	—
2,90	3,96	2,95	3,92	2,92	3,45
2,11	2,88	2,14	—	—	—
1,45	1,96	1,46	1,96	1,46	6,9
0,73	0,97	0,72	1,01	0,75	13,7
0,36	0,44	0,33	0,50	0,37	27,8
0,15	0,19	0,14	0,22	0,16	66,6

2. *Bereitung der Testlösung von Natriumhypochlorit*: Ein Strom gewaschenen und getrockneten Chlors wird 15 Min. lang in 20 ccm einer 2n-eisgekühlten Natronlauge eingeleitet. Von dieser Lösung haben wir 2 Verdünnungen mit dest. Wasser bereitet: Lösung 1 enthielt, bestimmt mit n/20-As_2O_3 in bicarbonathaltiger Lösung, in 1 ccm 8,44 mg NaClO; Lösung 2 entsprechend 1,45 mg NaClO. Diese Stammlösungen wurden im Kühlschrank aufbewahrt und daraus die weiteren Verdünnungen hergestellt.

3. *Bestimmung des NaClO-Gehaltes im Natriumchloritpräparat I*: 1,00 g des Salzes in 5 ccm 2n-NaOH verbrauchten, nach den unter 1 gemachten Angaben analysiert, 1,47 ccm n/100 HCl = 1,1 mg NaClO = 0,11%.

II. Analyse der Natriumchloritpräparate I und II

1. *Natriumhypochlorit.* $2\,ClO' + As_2O_3 = As_2O_5 + 2\,Cl'$.

Ansatz: 10 ccm n/10-As_2O_3-Lsg. + 10 ccm ges. $NaHCO_3$-Lsg. + 10 ccm H_2O + 20 ccm Lsg. des Chloritpräparates (2,00 mg/ccm). Titration mit n/10-Jod-Lsg. bei Gegenwart von 5 ccm 0,2proz. Stärke-Lsg.

1 ccm n/10-As_2O_3 = 3,723 mg NaClO.

Ergebnisse: Mittelwerte aus je 8 Bestimmungen.

Titerstellung: 1 ccm ca. n/10-As_2O_3 = 0,994 ccm n/10-Jod-Lsg.

Präparat I: Gef. 9,95 ccm n/10-Jod-Lsg. 0,0 mg = 0% NaClO.

Präparat II: Gef. 9,65 ccm n/10-Jod-Lsg. = 1,17 mg = 2,8% NaClO.

2. *Natriumchlorit.* $ClO_2' + 4\,J' + 4\,H^+ = 2\,J_2 + 2\,H_2O + Cl'$
$ClO' + 2\,J' + 2\,H^+ = J_2 + H_2O + Cl'$.

Bei Einhaltung der zur iodometrisch, schwefelsauren Messung angegebenen Bedingungen reagiert ClO_3' nicht. Die anwesenden kleinen ClO'-Mengen werden quantitativ vom Jodid reduziert, ohne daß es zur Bildung von Chlordioxyd und Chlor kommt.

[17]) E. J. Conway u. A. Byrne, Biochem. Journ. **27**, 428 (1939).

Ansatz: 50 ccm 2proz. KJ-Lsg. + 20 ccm H_2O + 20 ccm 30proz. Schwefelsäure + 10 ccm Lsg. des Chloritpräparates (2,00 mg/ccm) nach 3minütigem Stehen im verschlossenen Erlenmeyer mit n/10-Thiosulfatlsg. in Gegenwart von 10 ccm 0,2proz. Stärkelsg. titrieren.

1 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$ = 2,261 mg $NaClO_2$ = 3,723 mg NaClO.

Ergebnisse: Mittelwerte aus je 4—6 Bestimmungen.

Titerstellung: Im Ansatz an Stelle der Lösung des Chloritpräparates 10 ccm n/10-Jod-Lsg.

1 ccm n/10-Jodlsg. = 0,998 ccm ca. n/10-$Na_2S_2O_3$-Lsg.

Kontrolle mit ClO_3': Im Ansatz an Stelle der Analysen-Lsg. 10 ccm $KClO_3$-Lsg. (2,00 mg/ccm).

gef. 1 Tropfen n/10-Thiosulfat-Lsg. = 0,0 mg $KClO_3$.

Präparat I:

Gef. 8,58 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$ = 19,42 mg = 97,0% $NaClO_2$

Präparat II:

Gef. 7,55 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$; auf NaOCl entfallen 0,21 ccm, für $NaClO_2$ verbleiben 7,34 ccm = 16,60 mg = 83,0% $NaClO_2$.

3. *Natriumchlorat.* a) Jodometrisch in salzsaurer Lösung: Bei Einhalten der angegebenen Mischungsreihenfolge und der übrigen Versuchsbedingungen reagieren ClO', ClO_2' und ClO_3' quantitativ.

$$ClO_3' + 6\ J' + 6\ H^+ = 3\ J_2 + 3\ H_2O + Cl'.$$

Ansatz: 10 ccm H_2O + 1 g KBr + 10 ccm der Lsg. des Chloritpräparates (2,00 mg/ccm) + 20 ccm konz. HCl (d = 1,19). Nach 5minütigem Stehen im verschlossenen Erlenmeyer wird zugegeben eine Mischung aus 10 ccm H_2O + 50 ccm 2proz. KJ. Nach weiteren 3 Min. verschlossenen Stehens mit n/10-Thiosulfat in Gegenwart von 10 ccm 0,2proz. Stärke-Lsg. titrieren.

1 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$ = 1,774 mg $NaClO_3$.

Ergebnisse: Mittelwerte aus je 4—6 Bestimmungen.

Titerstellung: Im Ansatz an Stelle des zuletzt zugegebenen Wassers 10 ccm n/10-Jod-Lsg.

1 ccm n/10-Jod-Lsg. = 0,998 ccm ca. n/10-$Na_2S_2O_3$-Lsg.

Kontrolle mit ClO_3' allein: Im Ansatz an Stelle der Analysen-Lsg. 10 ccm $KClO_3$-Lsg. (2,00 mg/ccm).

1 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$ = 2,043 mg $KClO_3$.

Gef. 9,78 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$ = 19,97 mg = 99,6% $KClO_3$.

Präparat I:

Gef. 8,63 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$; auf $NaClO_2$ entfallen 8,58 ccm, für $NaClO_3$ verbleiben 0,05 ccm = 0,089 mg = 0,5% $NaClO_3$.

Präparat II:

Gef. 7,82 ccm n/10-$Na_2S_2O_3$; auf NaClO entfallen 0,21 ccm, auf $NaClO_2$ entfallen 7,34 ccm, für $NaClO_3$ verbleiben 0,27 ccm = 0,479 mg = 2,4% $NaClO_3$.

b) Permanganometrisch in Schwefelsäure: Durch Einfließenlassen der Analysenlösung in eine Lösung von Mohrschem Salz bei Zimmertemperatur werden ClO' und ClO_2' vollständig zu Cl' reduziert, während ClO_3' nur z. T. reagiert. Nach Ansäuern in CO_2-Atmosphäre setzt sich bei Siedehitze auch ClO_3' quantitativ mit Fe^{2+} um.

$$ClO_2' + 4\ Fe^{2+} + 4\ H^+ = 4\ Fe^{3+} + 2\ H_2O + Cl'$$
$$ClO_3' + 6\ Fe^{2+} + 6\ H^+ = 6\ Fe^{3+} + 3\ H_2O + Cl'.$$

Lösung von Mohrschem Salz: 35 g Eisen-II-ammon-sulfat in 900 ccm Wasser und 10 ccm 2n-Schwefelsäure zu 1 l auffüllen und nach Schütteln filtrieren (Ansätze A und B).

Lösung von Mangansulfat-Phosphorsäure: bereitet nach Reinhardt[18]).

Ansatz: Im 250 ccm Rundkolben werden im CO_2-Strom gemischt 20 ccm Mohrsche Salz-Lsg. + 50 ccm H_2O + 10 ccm der Lsg. des Chloritpräparates (2,00 mg/ccm). Man gibt einige Quarzsplitter und 20 ccm 30proz. H_2SO_4 hinzu, verschließt mit einem Bunsenventil und erhitzt 10 Min. lang zu gelindem Sieden. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur werden 5 ccm Mangansulfat-Phosphorsäure-Lsg. zugesetzt und mit n/10-$KMnO_4$-Lsg. titriert.

$$5\ Fe^{2+} + MnO_4' + 8\ H^+ = 5\ Fe^{3+} + Mn^{2+} + 4\ H_2O.$$

1 ccm n/10-$KMnO_4$ = 3,723 mg $NaClO$ = 2,261 mg $NaClO_2$ = 1,774 mg $NaClO_3$.

Ergebnisse: Mittelwerte aus je 4—6 Bestimmungen.

Titerstellung: 20 ccm Mohrsche Salz-Lsg. (Ansatz A bzw. B) + 55 ccm H_2O + 20 ccm 30proz. H_2SO_4 + 5 ccm Mangansulfat-Phosphorsäure-Lsg. mit n/10-$KMnO_4$ titrieren.

Gef. Lösung A = 17,60 ccm; Lösung B = 17,39 ccm n/10-$KMnO_4$.

Kontrolle mit ClO_3' allein: Im Ansatz an Stelle der Analysen-Lsg. 10 ccm $KClO_3$-Lsg. (2,00 mg/ccm).

1 ccm n/10-$KMnO_4$ = 2,043 mg $KClO_3$.

Mohrsche Salz-Lsg. Ansatz B	=	17,39 ccm n/10-$KMnO_4$
Gef.	=	7,61 ccm
für $KClO_3$ verbleiben	=	9,78 ccm
	=	19,97 mg = 99,6% $KClO_3$.

Präparat I: Mohrsche Salz-Lsg. Ansatz A	=	17,60 ccm $KMnO_4$
Gef.	=	8,96 ccm
für ClO_2' und ClO_3' verbleiben	=	8,64 ccm
auf $NaClO_2$ entfallen	=	8,60 ccm
für $NaClO_3$ verbleiben	=	0,106 mg = 0,5% $NaClO_3$

Präparat II: Mohrsche Salz-Lsg. Ansatz B	=	17,39 ccm $KMnO_4$
Gef.	=	9,57 ccm
für ClO', ClO_2' und ClO_3' verbleiben	=	7,82 ccm
auf $NaClO$ entfallen	=	0,21 ccm
auf $NaClO_2$ entfallen	=	7,34 ccm
für $NaClO_3$ verbleiben	=	0,27 ccm
	=	0,479 mg = 2,4% $NaClO_3$

4. *Natriumchlorid.* a) Argentometrisch in Bicarbonatlösung: Während ClO_2' und ClO_3' nicht reagieren, wird durch ClO' die berechnete Menge zugefügtes Arsenit in Arsenat übergeführt. Zur sicheren Umschlagserkennung wird noch weiteres Arsenat als Indikator zugegeben. Titration mit n/20-$AgNO_3$-Lsg. bis der Niederschlag von AgCl einen rötlichen Ton angenommen hat; Vergleich mit der bei der Titerstellung austitrierten Probe.

1 ccm n/20-$AgNO_3$ = 2,923 mg NaCl

1 ccm n/10-As_2O_3-Lsg. = 5,76 mg As_2O_5 = 0,94 ccm 10proz. $Na_3AsO_4 \cdot 12\ H_2O$.

Ansatz: a ccm H_2O + b ccm n/10-As_2O_3 (a + b = 60 ccm) + 20 ccm ges. $NaHCO_3$-Lsg. + 20 ccm der Lsg. des Chloritpräparates (20 mg/ccm) + c ccm 10proz.

[18]) Chem. Z. 13, 323 (1889).

$Na_2AsO_4 \cdot 12\ H_2O$. Der Wert berichtet sich nach dem NaClO-Gehalt des Chloritpräparates. c soll in 100 ccm-Ansatz 2 ccm betragen. Für Präparat I (kein NaClO) ist b = 0 ccm; c = 2 ccm. Für Präparat II (2,4% NaClO) ist b = 0,64 ccm; demnach c = 1,36 ccm.

Ergebnisse: Mittelwerte aus je 5 Bestimmungen.

Titerstellung: 75 ccm H_2O + 5 ccm n/10-HCl + 20 ccm ges. $NaHCO_3$-Lsg. + 2 ccm 10proz. $Na_2AsO_4 \cdot 12\ H_2O$.

0,5 ccm n/10-HCl = 1,012 ccm ca. n/20-$AgNO_3$.

Präparat I:

Gef. 2,145 ccm n/20-$AgNO_3$ = 6,27 mg = 1,6% NaCl.

Präparat II:

Gef. 12,72 ccm n/20 $AgNO_3$; auf NaClO entfallen 3,78 ccm, für NaCl verbleiben 8,94 ccm = 26,13 mg = 6,5% NaCl.

b) Gewichtsanalytisch: 200,0 mg Präparat II im Rundkolben in 180 ccm Wasser lösen, mit CO_2 durchströmen, 30 ccm 10proz. $FeSO_4$ zugeben, 3 Minuten verschlossen mit Bunsenventil stehen lassen und 15 Min. lang zu gelindem Sieden erhitzen. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur wird mit verd. HNO_3 schwach angesäuert und mit $AgNO_3$-Lsg. gefällt.

Gef. 0,3117 g AgCl = 0,1271 g = 63,8% NaCl.

Ber. 53,6% aus $NaClO_2$ + 2,2% aus NaClO + 1,3% aus $NaClO_3$ = 57,1% NaCl. NaCl-Gehalt aus der Differenz = 6,7%.

5. *Natriumhydroxyd und Natriumcarbonat*[13])

Ansatz: 20 ccm der Lösung des Chloritpräparates (50 mg/ccm) + 30 ccm H_2O werden mit n/20-HCl zuerst gegen Phenolphthalein (Wert a) und dann gegen Methylorange titriert (Wert b).

1 ccm n/20-HCl = 2,6498 mg Na_2CO_3 = 2,0002 mg NaOH.

2b ccm n/20-HCl entspr. Na_2CO_3; a − b ccm n/20 HCl entspr. NaOH.

Präparat I:

Gef. a = 2,94 ccm n/10-HCl
b = 0,01 ccm „ „
2b = 0,02 ccm „ „
= 0 % Na_2CO_3
a − b = 2,93 ccm n/10-HCl
= 5,86 mg = 0,6% NaOH

Präparat II:

Gef. a = 11,54 ccm n/10-HCl
b = 8,60 ccm „ „
2b = 17,20 ccm „ „
= 45,58 mg = 4,6% Na_2CO_3
a − b = 2,94 ccm n/10-HCl
= 5,88 mg = 0,6% NaOH

Kontrolle des Natriumcarbonatwertes im Präparat II: 1,0010 g Substanz werden mit konz. HCl bis zur Gewichtskonstanz abgeraucht und das gebildete Natriumchlorid ausgewogen.

Gef. 0,6698 g = 66,9% NaCl.

Ber. 53,6% aus $NaClO_2$ + 2,2% aus NaClO + 1,3% aus $NaClO_3$ + 6,5% aus NaCl + 0,3% aus NaOH + 0.2% unlöslicher Rückstand = 64,7% NaCl aus der Differenz = 2,2% = 40,16 mg = 4,0% Na_2CO_3.

6. *Rückstandbestimmung.* 10,00 g Chloritpräparat gelöst, filtrieren, Cl'-frei waschen und Filter mit Rückstand veraschen.

Präparat I:

kein Rückstand

Präparat II:

0,019 g = 0,2% Rückstand

Fräulein H. Greiner danken wir für die eifrige Hilfe bei der Ausführung der Versuche.

Einwirkung von Phosphorbromid auf China-Alkaloide; Umwandlung von China-Alkaloiden in hetero-China-Alkaloide; Erweiterung des Chinuclidin-Ringes und ihre Umkehrung[1])

Von *Paul Rabe*

unter Mitarbeit von *Wilhelm Hochstätter*[2]), *Franz Cohausz*[3]), *Kurt-Christian Scheel*[4]), *Karl Dussel*, *Herbert Haeuszler*, *Hans Walther*[5]), *Renate Teske-Guttmann und Liselotte Cauer-Wilhelm*

(Aus dem Chemischen Staatsinstitut Hamburg, Universität)

[Eingelaufen am 20. September 1948]

Nach zwei kurzen Mitteilungen[6]) gibt es Alkohole, die mit China-Alkaloiden strukturisomer sind und von ihnen als *hetero-China-Alkaloide* unterschieden werden: *h-Hydrocinchonin*, *h-Cinchonin* und *h-Chinin*. Sie sind keine Derivate des Chinuclidins wie jene, sondern sollen Derivate eines *neuen bicyclischen Systems mit Brückenbindung*, des *Homochinuclidins* sein. Von den h-Alkoholen ist der erste der wichtigere, der dritte der wichtigste: h-Hydro-cinchonin ist der zuerst beschriebene; er wurde aus Hydro-cinchonin über ein Bromid gewonnen, das bei der Einwirkung von Phosphor-pentabromid entdeckt worden war und bei dessen Bildung sich der Chinuclidin-Ring erweitert haben soll; *h-Chinin* kommt *natürlich* in der Chinarinde vor, es wurde aus einem Handelspräparat von Chininum purissimum präcipitatum in einer Menge von 0,006% isoliert.

Die Untersuchung über die Einwirkung von Phosphorbromid auf Chinaalkaloide ist aus unseren „Stereochemischen Forschungen" erwachsen[7]). Zur Ermittelung ihrer Konfiguration[8]) hatten unter anderem die genetischen Beziehungen zwischen Hydro-cinchonin, Hydro-cinchonin-chlorid und Desoxy-hydro-cinchonin gedient, nachdem Zweifel an der Konstitution des Chlorids und der Desoxy-verbindung beseitigt waren[9]). Die damals aufgestellten Strukturformeln erfahren jetzt,

[1]) 34. Mitteilung zur Kenntnis der Chinaalkaloide, 33. Mitteilung B. **74**, 725 (1941).

[2]) Herr Dr. Wilhelm Hochstätter hat mich bei der Vorbereitung und Leitung der ersten dieser Abhandlung zugrunde liegenden Arbeiten in hingebender Weise unterstützt. Ich danke ihm für seine Hilfe herzlich.

[3]) Dissert. Hamburg 1930.

[4]) Dissert. Hamburg 1932.

[5]) Dissert. Hamburg 1937.

[6]) Rabe und Hochstätter, A. **514**, 64 (1934); Rabe, B. **74**, 225 (1941).

[7]) A. **373**, 85 (1910); **492**, 242 (1932); **496**, 151 (1932).

[8]) V. Prelog hat die Untersuchungen über die Konfiguration der Chinaalkaloide zum Abschluß gebracht, siehe Helv. **27**, 535 (1944).

[9]) A. **492**, 247, besonders 248, Fußnote 6 (1932).

wie gleich hier bemerkt sei, insofern eine Änderung, als die Hydroxyl-Gruppe einen anderen Platz einnimmt: die h-Alkohole sind keine *1, 1-*, sondern *1, 2-Hydramine.*

Es war nämlich gelungen, die Desoxy-Verbindung außer über das Chlorid noch über ein Keton[10]), das sogenannte Hydro-cinchoninon[10]) herzustellen. Demgemäß gehört die Bildung des Chlorids nicht zu den „tiefgreifenden Umlagerungen", auf die man wiederholt bei Einwirkung von Phosphorhalogenid auf mehrkernige Naturstoffe gestoßen war (doch siehe Seite 134).

Zur Beseitigung jener Zweifel hatten wir vergeblich versucht, das Chlorid zu hydrolysieren. Schon W. Comstock und W. Koenigs hatten die Hydrolyse von China-chloriden durch Erhitzen mit Säuren (Alkalien spalten Chlorwasserstoff ab) erstrebt; aber selbst als sie Silber-Salze zu Hilfe nahmen[11]), verlief die Reaktion träge und ohne positives Resultat. Da Brom weniger fest als Chlor haftet, hatten wir gehofft, durch Verwendung eines der noch unbekannten China-bromide zum Ziele zu kommen; aber das aus Hydro-cinchonin erhaltene Bromid Schmp. 102° widerstand der Hydrolyse[3]). Da es durch Reduktion in das obige Desoxy-hydro-cinchonin übergeht, stand seine Konstitution

[10]) Die Frage nach der *Konfiguration der China-Ketone* und nach ihrer konfigurativ zutreffenden *Benennung* hat zuerst G. Hagen, Dissert. Hamburg 1934, bei dem sogenannten Hydro-chininon aufgeworfen, das man durch Oxydation von Hydro-chinin oder Hydro-chinidin gewinnt. Er unterwarf eine frisch bereitete Auflösung des Ketons in verd. Salzsäure der katalytischen Hydrierung unter Verwendung eines hochaktiven Palladium-mohrs und erhielt praktisch je 50% Hydro-chinidin und Epi-hydro-chinidin; eine gealterte Lösung dagegen lieferte neben diesen Alkoholen noch Hydro-chinin und Epi-hydro-chinin. Hieraus folgt, daß das Keton in Zukunft als Hydro-chinidinon zu bezeichnen ist, und daß die Hydrierung sehr viel rascher verläuft als die Einstellung des Gleichgewichtes. Zu dieser Umbenennung kommt man auch auf einem andern Wege: Er gestattet die Ableitung der Konfiguration für sämtliche China-Ketone an Hand von früheren Versuchen (Rabe, A. **373**, 108 (1910) und A. Irschick, Dissert. Jena 1913) und im Anschluß an spätere Erkenntnisse (A. **492**, 248 [1932]; **496**, 154 [1932]). Die Einstellung des Gleichgewichtes zwischen 2 Keto- und 2 Enol-Formen

wurde polarimetrisch verfolgt. Bei der einen Keto-Form ist der Drehungssinn + an 8, bei der anderen —. Da nun bei sämtlichen Ketonen der Anfangsdrehwert + ist, und da der Drehwert bei den Ketonen aus Chinin und Hydro-chinin abnimmt, bei den Ketonen aus Cinchonin und Hydro-cinchonin zunimmt, so ist der Drehungssinn an 8 bei jenen +, bei diesen —. Demnach gehören konfigurativ jene zu Chinidin und Hydro-chinidin (Alkaloiden mit + an 8), diese zu Cinchonidin und Hydro-cinchonidin (Alkaloiden mit — an 8) und sind in Zukunft als Chinidinon und Hydro-chinidinon, Cinchonidinon und Hydro-cinchonidinon zu bezeichnen. Siehe hierzu R. B. Woodward, N. L. Wendler u. F. J. Brutschy, Journ. Amer. Chem. Soc. **67**, 1427 (1945).

[11]) B. **25**, 1546 (1892).

fest. Offen blieb die Frage nach seiner Konfiguration: ist es Hydro-cinchonin-bromid oder Epi-hydro-cinchonin-bromid? Eine Frage, die sich in ihrer Verallgemeinerung auf sämtliche bisher beschriebene China-chloride erstreckt. Denn aus den China-Alkaloiden mit der Hydroxyl-Gruppe an einem der vier asymmetrischen C-Atome können je zwei Halogenide hervorgehen, das eine ohne Wechsel der Konfiguration, das andere unter Waldenscher Umkehrung. Da sich nun das Bromid Schmp. 102° nicht quantitativ gebildet hatte, bestand die Aussicht, das epimere Bromid durch Benutzung der fruchtbaren *Methode der systematischen fraktionierten Verteilung von* E. Jantzen[12]) aufzufinden, zumal man hier den Gang der Verteilung leicht durch Bestimmung des optischen Drehwertes der einzelnen Fraktionen verfolgen kann. So erhielt Scheel[13]) aus den letzten Fraktionen als stärker basischen Anteil das obige von Cohausz[3]) zuerst abgeschiedene Bromid Schmp. 102° und aus den ersten Fraktionen ein zweites Bromid Schmp. 132°. Aber überraschender Weise war dieses nicht das gesuchte epimere Bromid, sondern ein strukturisomeres, weil es bei der Reduktion eine noch unbekannte Desoxy-Verbindung (Schmp. 113°) lieferte, und gegen Lackmus nicht wie das erste alkalisch, sondern *neutral* reagierte.

Später glückte es K. Dussel aus den mittleren Fraktionen als drittes Bromid das gesuchte stereoisomere abzutrennen, obwohl es ein Oel ist und in seiner Basizität dem ebenfalls abgetrennten Hydro-cinchen[14]) nahe steht. Das obige Bromid — charakterisiert durch ein Dihydrat und Dinitrat — gleicht in seinem Verhalten gegen Lackmus und bei der Reduktion dem ersten.

Im Anschluß an die Entdeckung des neutralen Bromids hat G. Hagen[15]) das analoge neutrale Chlorid aufgefunden[16]). Wie wir sehen werden, beruht die Bildung dieser beiden Halogenide (hetero-Halogenide) tatsächlich auf *einer „tiefgreifenden* Umlagerung".

---

[12]) Das fraktionierte Destillieren und das fraktionierte Verteilen als Methode zur Trennung von Stoffgemischen, Dechema Monographie Nr. 48 (1932).

[13]) Dissert. Hamburg 1932, wo dieses Bromid als „isomeres Hydro-cinchonin-bromid" bezeichnet ist.

[14]) Entstanden entweder schon aus Hydro-cinchonin durch Wasserabspaltung oder erst bei der Aufarbeitung durch Abspaltung von Bromwasserstoff aus den stereoisomeren Bromiden. Nach der Theorie sind zwei Anhydro-Basen möglich, eine cis- und eine trans-Form; isoliert wurde bisher nur das bekannte *Hydro-cinchen*, Schmp. 147°, über das andere, *Iso-hydro-cinchen* genannte, siehe unten Seite 152.

[15]) Dissert. Hamburg 1934.

[16]) Das Hauptprodukt der Umsetzung von Hydro-cinchonin mit PCl_5 ist das oben erwähnte alkalisch reagierende Chlorid, Schmp. 88°, das hinfort als Epi-hydro-cinchonin-chlorid zu registrieren ist. In sehr geringer Menge entsteht das neutrale Chlorid, das h-Hydro-cinchonin-chlorid, Schmp. 140°, $[\alpha]_D^{18}$ in Äthanol = + 195,5°; es wurde als das in starker Salpetersäure schwer lösliche Dinitrat abgeschieden und gereinigt. Das mit dem Epi-chlorid stereoisomere Hydro-cinchonin-chlorid ist noch unbekannt.

Hatte es sich ursprünglich um die Sicherung der Konstitution des Desoxy-hydro-cinchonins gehandelt, so hatten sich im Verlaufe der Untersuchung neue Aufgaben eingestellt:

1. Ermittelung der Konfiguration der aus Hydro-cinchonin ohne Änderung der Struktur entstandenen Bromide.

2. Ermittelung der Konstitution des unter Änderung der Struktur entstandenen Bromids.

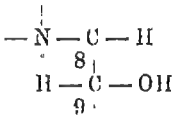
3. Aufklärung des Mechanismus der Strukturänderung.

4. Ausdehnung der Untersuchung auf andere China-alkaloide, besonders Chinin.

Wir sind nicht die ersten, die Phosphorbromid auf ein China-Alkaloid einwirken ließen. S. Fränkel, O. Herschmann und Charl. Tritt[18]) hatten schon die Herstellung von Chininbromid aus Chinin versucht; aber mit PBr_3 war die Umsetzung nicht vollständig und mit PBr_5 bildeten sich Chinin-tri-bromide. Bei der letzten Reaktion hatte sich freies Brom beteiligt, das aus $P Br_5$, bei dessen großer Neigung zur thermischen Dissociation abgespalten worden war. Diese mußte möglichst zurückgedrängt werden. Die Zurückdrängung erreichten wir entweder gemäß dem Massenwirkungsgesetz durch Zugabe von $P Br_3$[19]) oder durch Bildung eines bei niedrigen Temperaturen beständigen Komplexes Alkaloid-Phosphorbromid[20]) oder am besten durch Vereinigung beider Maßnahmen. Im folgenden ist unter *Phosphorbromid* ein Gemisch von Tri- und Pentabromid zu verstehen.

I. Einwirkung von Phosphorbromid auf die Alkaloide der Hydro-cinchonin-Gruppe

Hydro-cinchonin I gehört zu einer Gruppe[21]) von vier stereoisomeren Alkaloiden mit der Atomgruppe



[18]) B. 56, 433 (1923).

[19]) In der Vorlesung eignet sich zur *Veranschaulichung des Massenwirkungsgesetzes* auch der Vergleich zweier geschlossener Rohre, von denen das eine nur PBr_5, das andere PBr_5 und PBr_3 enthält, bei verschiedenen Temperaturen, z. B. durch Eintauchen erst in eine Eis-Kochsalz-Mischung, dann in kochendes Wasser.

[20]) Die zweite Maßnahme beruht auf einer Beobachtung von Scheel[4]): Ein Gemisch von Hydro-chinin, PBr_5 und Chloroform verlor beim Abkühlen auf $-18°$ die für Br typische Farbe.

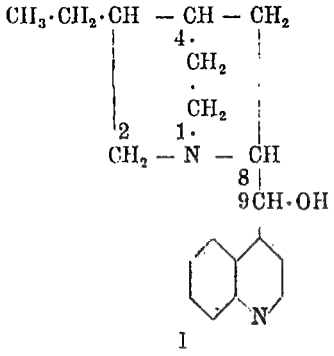
[21]) A. 492, 252 (1932).

Sie sind unter Beifügung des Drehungssinnes an 8 und 9 und der geschätzten p_H-Werte[22])

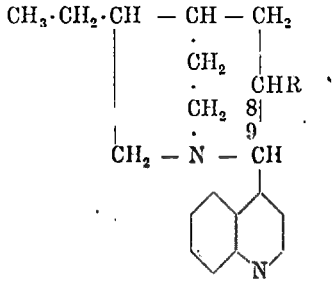
	8	9	
Hydro-cinchonin	+	+	$p_H = 9$
Hydro-cinchonidin	−	−	„ = 8,5
Epi-hydro-cinchonin	+	−	„ = über 9
Epi-hydro-cinchonidin	−	+	„ = über 9

Theoretisch existieren also 4 Bromide der Hydro-cinchonin-Gruppe.

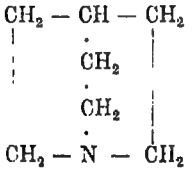
Einwirkung auf Hydro-cinchonin. Sie vollzieht sich in zwei Phasen: zuerst wird in Chloroform bei etwa —15° Phosphorbromid angelagert und dann bei 40—50° die Umsetzung durchgeführt. Ein so erhaltenes Rohprodukt gab mit Eis und Wasser eine wässrige Lösung[23]), aus der die gebildeten Basen mit überschüssigem Ammoniak und Äther isoliert wurden. Bei ihrer fraktionierten Verteilung fielen, wie oben geschildert, 4 Substanzen an, die in der folgenden Zusammenstellung nach steigender Basizität angeordnet, und von denen die Bromide auch nach der ermittelten Konstitution und Konfiguration benannt sind.



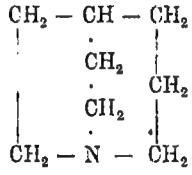
I



II. R = H III. R = OH
IV. R = Br



V



VI

[22]) B. 76, 254 (1943). Dort sind auch mit einer Antimon-Elektrode erhaltene Werte angegeben.

[23]) In ihr findet sich disaurer Phosphorsäureester des Hydro-cinchonins.

	$[\alpha]_D$ in Äthanol	gegen Lackmus	
Bromid, Schmp. 132°	+ 182°	neutral	h-Hydro-cinchonin-bromid
Hydro-cinchen 147°	+ 57°	schwach alkal.	Hydro-cinchen
öliges Bromid	+ 40°	stärker alkal.	Hydro-cinchonin-bromid[24])
Bromid, Schmp. 102°	+ 72°	noch stärker alkalisch	Epi-hydro-cinchonin-bromid[24])

Bei einem nach Kenntnis von Eigenschaften der Bromide angestellten Versuche wurden aus 150 g Hydro-cinchonin erhalten: als Rohprodukt 170 g Oel und daraus

4,4 g	h-Hydro-cinchonin-bromid . .	oder	2,4% der Theorie[25])
20,0 g	Hydro-cinchen	„	14,2 „ „ „
25,3 g	Hydro-cinchonin-bromid . . .	„	13,4 „ „ „
67,3 g	Epi-hydro-cinchonin-bromid . .	„	37,1 „ „ „

Eine Eigenschaft dieser und anderer Bromide und Epi-bromide ist zu beachten: sie und noch mehr ihrer Lösungen in organischen Solventien verursachen auf die Haut gebracht *Ekzeme*, wobei die Empfindlichkeit individuell verschieden ist. Anzunehmen ist, daß die h-Bromide ebenso wirken.

Einwirkung auf Epi-hydro-cinchonin. Durch sie gelangten wir, wie zu erwarten, zum gleichen Paar epimerer Bromide wie aus Hydro-cinchonin. Ein neutrales Bromid war nicht aufzufinden.

Einwirkung auf Hydro-cinchonidin und Epi-hydro-cinchonidin. In beiden Fällen fiel das andere Paar epimerer Bromide an: das schwächer alkalische *Hydro-cinchonin-bromid* Schmp. 160° und das stärker alkalische *Epi-hydro-cinchonidin-bromid* Schmp. 154°. Ein neutrales Bromid (Schmp. 145°) wurde nur beim Versuch mit Hydro-cinchonidin gefaßt. Nach seiner Herkunft (siehe Seite 142) heiße es h-Hydro-cinchonin-bromid.

Die Konfiguration der 4 alkalischen Bromide wird in II, die Konstitution der beiden neutralen in IV behandelt.

II. Konfiguration der Bromide der Hydro-cinchonin-Gruppe

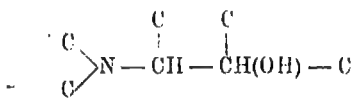
Die Konfiguration an den Asymmetriezentren 8 und 9 läßt sich nicht wie bei den China-Alkaloiden auf physikalischem Wege[26]) er-

[24]) Umgekehrt sind die epimeren Bromide in den Dissertationen [3]), [4]) und [5]) benannt; das gleiche gilt für die entsprechenden Bromide anderer China-alkaloide.

[25]) Die Menge h-Bromid war bei anderen Versuchen verhältnismäßig nicht so gering. Im besten Falle betrug sie 14%; bei diesem Versuch hatte sich das h-Bromid z. T. schon aus der ätherischen Lösung des Rohproduktes abgeschieden[4]).

[26]) Bei ihnen wurde von Rabe, A. 492, 242 (1932), der Vergleich der Werte des spezifischen Drehungsvermögens genetisch zusammenhängender Substanzen benutzt. So ändert sich z. B. $[\alpha]_D$ der Drehwert beim gedanklichen Übergange vom Desoxy-hydro-cinchonin zum Hydro-cinchonin um +56,4°, zum Epi-hydro-cinchonin

mitteln, wohl aber auf *chemischem*[27]) und zwar erst, nachdem bei gewissen stereoisomeren 1,2-Hydraminen ihre Basizität als eine Funktion ihrer Konfiguration erkannt worden war[28]). Es besteht nämlich bei 1,2-Hydraminen mit zwei asymmetrischen C-Atomen in der Gruppe



die *Regelmäßigkeit*: Die enantio-stereomeren Formen sind schwächer basisch als die dia-stereomeren. Unter die Regelmäßigkeit fallen nicht nur die Alkohole der Hydro-cinchonin-Gruppe[29]), sondern auch ihre

	Schmp.	Drehungssinn an 8	Drehungssinn an 9	gegen Lackmus
Benzoyl-hydro-cinchonin	128°	+	+	schwächer basisch
Benzoyl-hydro-cinchonidin	ölig	—	—	schwächer basisch
Benzoyl-epi-hydro-cinchonin[30])	156°	+	—	stärker basisch
Benzoyl-epi-hydro-cinchonidin[30])	133°	—	+	stärker basisch

Benzoyl-derivate, bei deren Darstellung durch Benzoylierung die Konfiguration an 9 nach Theorie und Erfahrung[31]) erhalten bleibt. Im Sinne der Regel sind die enantio-stereomeren Benzoylverbindungen die schwächer, die dia-stereomeren die stärker basischen. — Wir übertragen die Regel auf die Bromide. Aus Hydro-cinchonin mit + + geht unter Erhaltung von + an 8 hervor: als schwächer basisches Bromid ein Öl, als stärker basisches das Bromid Schmp. 102°. Daraus folgt, daß das ölige Bromid eine enantio-stereomere, das feste

um −55,2°, dagegen sind die betreffenden Werte beim Übergang vom Desoxy-hydro-cinchonin zum öligen Bromid −103°,6°, zum Bromid, Schmp. 102° -71,6°, und beim Übergang vom Desoxy-hydro-cinchonin zum Benzoyl-hydro-cinchonin −166,6°, zum Benzoyl-epi-hydro-cinchonin +11,0°, zwei Verbindungen, die in diesem Abschnitt verwendet werden.

[27]) Zur Ermittlung der Konfiguration auf chemischem Wege siehe W. Hückel, Theoretische Grundlagen der organischen Chemie, 3. Aufl., Bd. I, 380 (1940).

[28]) Rabe, B. 76, 251 (1943).

[29]) Siehe oben Seite 136, die Zusammenstellung mit Angabe des Drehungssinnes an 8 und 9, wie der p_H-Werte.

[30]) J. Friedziusko u. J. Suszko, C. 35, I 2181; siehe auch M. Heidelberger u. W. A. Jacobs, Am. Chem. Soc. 44, 1091 (1922).

[31]) P. Walden, Optische Umkehrerscheinungen (1919); Emil Fischer, A. 394, 360 (1917); K. Freudenberg, in Stereochemie; herausgegeben von K. Freudenberg, 1933, S. 676; W. Hückel, Theoretische Grundlagen der org. Chemie, 4. Aufl., Bd. I, 412 (1943).

eine dia-stereomere Form darstellt, jenes also Hydro-cinchoninbromid mit + +, dieses Epi-hydro-cinchonin-bromid mit + — ist. In entsprechender Weise ergibt sich für die Bromide aus Hydro-cinchonidin mit — an 8, daß im schwächer basischen Schmp. 160° das Hydro-cinchonidin-bromid mit — —, im stärker basischen Schmp. 154° das Epi-hydro-cinchonidin-bromid mit — + vorliegt.

Diese Resultate veranschaulicht die folgende Zusammenstellung:

	Schmp.	Drehungssinn an 8	Drehungssinn an 9	nach der Verteilung
Hydro-cinchonin-bromid . .	ölig	+	+	schwächer basisch
Hydro-cinchonidin-bromid . .	160°	—	—	
Epi-hydro-cinchonin-bromid .	102°	+	—	stärker basisch
Epi-hydro-cinchonidin-bromid	154°	—	+	

Mit der Übertragung der Regel auf die Bromide geht man nicht fehl, weil man für Epi-hydro-cinchonin-bromid nach Abschnitt III die gleiche Konfiguration aus seiner Hydrolyse abzuleiten vermag.

So dürfte zum ersten Male der *sterische Verlauf einer Substitution durch Unterschiede in der Basizität der Substitutionsprodukte aufgeklärt sein.* Weiter kann man ungefähr deren Mengenverhältnis angeben[32]). Es war z. B. das Verhältnis von Hydro-cinchonin-bromid zu Epi-hydro-cinchonin-bromid bei einem Versuch mit Hydro-cinchonin wie 4:1.

III. Hydrolyse des Epi-hydro-cinchonin-bromids

Sie wurde zuerst auf indirektem Wege durch Umesterung mit Silber-benzoat in Aceton[33]) bei Raumtemperatur mit nachfolgender Verseifung und dann auf direktem Wege durch Einwirkung von Silberionen in saurer Lösung bei erhöhter Temperatur erreicht.

Aus diesen Tatsachen ist zu schließen: Erstens die direkte Hydrolyse ist eine Ionen-Reaktion; in ihrer ersten Phase wird unter dem Zuge der Ag-Ionen das Br-Atom als Br-Ion abgegeben, in der zweiten vom hinterbliebenen Carbenium-Ion ein OH-Ion aufgenommen. Demgemäß ist auch die *Umesterung* bei der indirekten Hydrolyse eine *Ionen-*

[32]) Über das Verhältnis von Erhaltung und Änderung der Konfiguration bei Umsetzung von optisch aktiven Alkoholen siehe W. Hückel u. H. Pietrzok, A. 540. 250 (1939).

[33]) Das zu verwendende Aceton darf keinen Alkohol enthalten, weil dieser an der Umsetzung sich beteiligen würde. Beim ersten Versuche dieser Umesterung hatte Scheel[4]) äthanolhaltiges Aceton benutzt; er fand unter den Produkten einen „Äthyläther des Hydro-cinchonins oder einer isomeren Verbindung". Die Verfolgung dieses Befundes hat zur Entdeckung der *h-Äther* geführt (siehe unten S. 146 u. 152).

Reaktion; im Reaktionsknäuel übernehmen die Ionen des Ag-benzoates die Rolle der Ag- und OH-Ionen der wässrigen Lösung. Und zweitens verlaufen beide Arten der Hydrolyse unter Waldenscher Umkehrung.

Beim zweiten Schluß ist die Konfiguration des Bromids gegeben. Man kann sie aber mit Hilfe einer Regel auch finden. Nach H. Philipps[34]) verläuft die Umesterung von Bromiden optisch aktiver sekundärer Alkohole unter Waldenscher Umkehrung[35]). Da nun das aus unserem Bromid entstandene Hydro-cinchonin ein solcher Alkohol ist, gehört es sterisch zum Epi-hydro-cinchonin, ist Epi-hydro-cinchonin-bromid.

IV. Konstitution der hetero-Bromide

Sie folgt aus dem Vergleich der strukturisomeren Desoxyverbindungen und wird durch die in Abschnitt V beschriebene Totalsynthese des h-Desoxy-hydro-cinchonins bestätigt.

Reduktion der h-Bromide. Die katalytische Reduktion des h-Hydro cinchonin-bromids hatte zu der h-Desoxy-Verbindung Schmp. 113° geführt. In gleicher Weise behandelt, gibt h-Hydro-cinchonidin-bromid eine isomere h-Desoxy-Verbindung, ein Öl. Nach der Herkunft ist die erste als *h-Desoxy-hydro-cinchonin*, die zweite als *h-Desoxy-hydro cinchonidin* zu bezeichnen. Aus dem Abschnitt V sei vorweggenommen, daß noch ein Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin existiert.

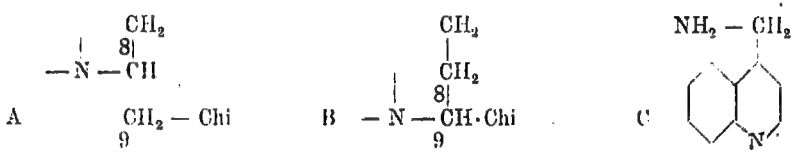
Konstitution der h-Desoxy-Verbindungen. Sie sind im Unterschiede zu den strukturisomeren Desoxy-Verbindungen neutral gegen Lackmus. Die Eigenschaften der beiden Arten von Desoxy-Verbindungen sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

	Schmp.	$[\alpha]_D$ in Äthanol	Drehungssinn an 9	p_H geschätzt	Schmp. d. Monojodhydrates
Desoxy-hydro-cinchonin	72	+ 143,6	+	unter 9	
Desoxy-hydro-cinchonidin	52	− 21,0	−	über 9	
h-Desoxy-hydro-cinchonin	113	+ 134,7	+	unter 7,5	218—221°
h-Desoxy-hydro-cinchonidin	ölig	− 49,1	−	neutral	
Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin	104	+ 122,0	+	7,5	246°

[34]) Chem. Soc. 123, 44 (1923). Siehe auch F. Arndt u. H. Scholtz, B. 66, 1013 (1933); B. Eistert, Tautomerie und Mesomerie, Sammlung chem. u. chem.-techn. Vorträge, Neue Folge, Heft 40, 19 (1939); W. Hückel, Theoret. Grundlagen der org. Chemie, 3. Aufl. I, 391 (1940).

[35]) Anders bei der Umesterung des p-Toluol-sulfonyl-cinchonins mit K-benzoat und Äthanol, wo nicht Benzoyl-epi-cinchonin isoliert wurde, sondern h-Benzoyl-cinchonin; siehe Abschnitt VI.

Da nun die alkalischen Desoxy-Verbindungen die Teilformel A besitzen, — Chi bedeuten den Rest des Chinolins —



so kann die Ursache für die geringere Basizität der anderen nur in der geringeren Entfernung des N-Atoms vom azidifizierenden Chinolinrest liegen. Demnach kommt den h-Desoxy-Verbindungen die Formel B zu und sie sind Derivate des *1-Aza-bicyclo-[2,2,3]-nonans* [36]), das um eine Methylen-Gruppe reicher als Chinuclidin V ist und *Homochinuclidin* VI genannt wird [36a]).

Die h-Desoxy-verbindungen besitzen demnach die Gesamtformel II; das nach rechts drehende h-Desoxy-hydro-cinchonin ist als (+), das nach links drehende h-Desoxy-hydro-cinchonidin als (—) 9-(*Chinolyl-4'*)-*3-aethyl-homochinuclidin* zu registrieren. Im Anschluß an frühere Darlegungen[37]) ist der Drehungssinn an 9 bei der ersten h-Desoxy-Verbindung +, bei der zweiten —.

Homochinuclidin ist eine Kombination des 6-gliedrigen Piperidin- und 7-gliedrigen Hexamethylenimin-Ringes. *Hexamethylenimin*[38]) und Derivate desselben hatte man auf synthetischem Wege gewonnen; jetzt ist sein Vorkommen in der Natur als ein *Baustein des hetero-Chinins* erwiesen[39]). — Bei der Beweisführung ist vorausgesetzt, daß das Homochinuclidin ebenso wie Chinuclidin und ebenso wie Piperidin und Hexamethylenimin eine starke Base ist. Daher fällt es auf, daß die h-Desoxy-Verbindungen als ihre Abkömmlinge neutral reagieren. Diese neutrale Reaktion fällt noch mehr beim Vergleich mit *Lepidyl-amin* C auf, von dem man sie als dialkylierte Substitutionsprodukte ableiten kann. Lepidylamin nämlich bläut Lackmus und sein Mono-chlorhydrat reagiert neutral[40]), während, was nachgetragen sei, das Mono-jodhydrat des h-Desoxy-hydrocinchonins Lackmus rötet. Vielleicht liegt hier eine „*Verdichtung*" infolge der Wirkung einer *Wasserstoff-Bindung* ähnlich wie beim *Hexamethylen-tetramin* vor, das trotz der vier gleichartigen N-Atome einsäurig ist und Lackmus nicht bläut[41]).

---

[36]) Dessen Synthese durch V. Prelog u. E. Cerkovnikov, A. **532**, 83 (1937) fällt zwischen die eingangs erwähnten beiden Mitteilungen.

[36a]) B. **74**, 727 (1941).

[37]) A. **492**, 251 (1932); **496**, 154 (1932).

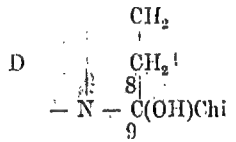
[38]) J. V. Braun u. A. Steindorff, B. **38**, 3083 (1905).

[39]) Rabe, B. **74**, 725 (1941).

[40]) Rabe, B. **46**, 1024 (1913).

[41]) Siehe hierzu R. Brill, Angew. **51**, 281 (1938) u. K. Kurz, ebenda **52**, 436 (1939).

Hydrolyse des h-Hydro-cinchonin-bromids. Im h-Bromid ist das Br weniger fest gebunden als im Epi-hydro-cinchonin-bromid, da die Hydrolyse[42]) bei einer geringeren Konzentration an Ag-Ionen[43]) eintritt. Das (wohl unter Walden'scher Umkehrung, siehe Seite 139) hervorgegangene *h-Hydro-cinchonin* ist neutral, löst sich nicht in Lauge und wird durch Phosphorbromid in das h-Bromid zurückverwandelt. Demnach ist es kein Oxychinolin, sondern ein *Alkohol* und steht der Substituent in ihm und im h-Bromid entweder am C-Atom 9 oder 8, so daß der Alkohol entweder ein 1,1-Hydramin der Teilformel D



oder ein 1,2-Hydramin E ist. Früher[6]) wurde angenommen, daß die OH-Gruppe wie ursprünglich im Hydro-cinchonin an 9 hafte. Aber hiermit verträgt sich nach späteren Versuchen[44]) die Beständigkeit des h-Alkoholes gegen starke Säuren[45]) nicht. Er ist also ein 1,2-Hydramin der Gesamtformel III und *9-(Chinolyl-4')-3-aethyl-8-oxy-homochinuclidin* zu benennen. Die beiden h-Bromide IV sind dementsprechend zu registrieren. Zur Vermeidung der schleppenden Namen bleibt es weiter zweckmäßig, die Abkömmlinge des Homochinuclidins als hetero-Verbindungen den strukturisomeren China-alkaloiden und ihren Abkömmlingen unter Berücksichtigung genetischer Beziehungen gegenüberzustellen. Die Anzahl der jeweilig möglichen stereoisomeren Formen ist die gleiche: bei den Desoxy-Verbindungen sind es wegen der Asymmetrie an 9 je zwei; bei den Alkoholen, Bromiden, Estern und Aethern wegen der Asymmetrie an 8 und 9 je vier mit dem Unter-

[42]) Eine partielle Hydrolyse und zwar unter *Ringverengerung* wurde beim Erhitzen des h-Bromids mit alkoholischem Kali beobachtet: es wurde eine verhältnismäßig geringe Menge *Hydro-cinchonin* abgetrennt; unter den Reaktionsprodukten fand sich auffallenderweise keine Anhydro-base.

[43]) Beim Epi-bromid bewirkte Kochen mit Ag_2SO_4 und verd. H_2SO_4 noch keine Hydrolyse, wohl aber Kochen mit $AgNO_3$ und verd. HNO_3. Dagegen wurde das h-Bromid unter den ersten Bedingungen rasch hydrolysiert (siehe Versuchsteil).

[44]) Diese Versuche und die Benzoylierung des h-Hydro-cinchonins hat Herr Dr. R. Kraul im Untersuchungsamt des Chemischen Staatsinstituts Hamburg in freundlicher Weise übernommen und so zur Aufklärung der Konstitution der h-China-alkohole beigetragen. Dafür danke ich ihm herzlich.

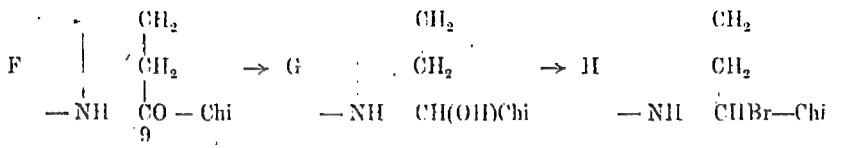
[45]) 1,1-Hydramine mit der Gruppe $>C(OH)-N<$ in offener gesättigter Kette werden schon durch kaltes Wasser gespalten mit Ausnahme des Chloral-ammoniaks: dieses zerfällt erst mit Wasser beim Erhitzen (unter Bildung von ameisensaurem Ammonium). 1,1-Hydramine mit jener Gruppe in geschlossener gesättigter Kette kennt man nicht. Ihnen nahestehende Säureamide werden durch Säuren hydrolysiert; so das α-Piperidon, und aus dem Oxim des Vinyl-chinuclidons entsteht nach Rabe, B. 41, 62 (1908) das Mero-chinen neben Hydroxylamin.

schiede, daß das N-Atom des bicyclischen Ringsystems und die OH-Gruppe bei den China-alkaloiden an 8 und 9, bei den h-Alkoholen umgekehrt an 9 und 8 hängen. Eine konfigurative Zuordnung[46]) ist bisher nur bei den h-Desoxy-Verbindungen möglich, siehe Seite 140.

Verhalten des h-Hydro-cinchonins III. Wegen seines neutralen Charakters setzt es sich mit Benzoylchlorid in benzolischer Lösung nicht wie die China-alkaloide schon bei Raumtemperatur[5]) um, sondern erst beim Erhitzen unter Bildung des Monochlorhydrates des Benzoyl-h-hydro-cinchonins. — Ferner unterscheidet es sich von den China-alkaloiden dadurch, daß weder es selbst noch sein Jodmethylat zu einem Keton aufgespalten werden (die Toxinspaltung erleiden).

V. Totalsynthese des h-Desoxy-hydrocinchonins II.

Schon vor der vollständigen Aufklärung der Chinatoxine und dann der China-alkaloide hatte ich vergeblich versucht[47]), aus dem Cinchotoxin ein bicyclisches System mit Brückenbindung zu gewinnen, nämlich durch Anwendung der Methode der *intramolekularen Alkylierung* auf den aus jenem Iminoketon darzustellenden Iminoalkohol[48]). Nach der Aufklärung mußte der damals eingeschlagene Weg bei der Bildung des Homochinuclidin-Ringes enden. Es wurde das bereits synthesierte[49]) Hydro-cinchotoxin F oder in anderer Benennung[50]) 9-Oxy-hydrotoxan F zum



Gemisch der schon bekannten epimeren Hydro-cinchotoxole[51]) oder 9-Oxy-hydro-cinchotoxane G katalytisch hydriert, die Alkohole als

[46]) Man könnte denjenigen der h-Alkohole h-Hydro-cinchonin nennen, bei welchem der Drehungssinn an 8 und 9 ebenso wie beim Hydro-cinchonin positiv ist, siehe A. 492, 248 (1932).

[47]) Im Anschluß an vergebliche Versuche zur intramolekularen Umlagerung des Cinchotoxins in ein bicyclisches 1,1-Hydramin mit Brückenbindung, B. 37, 1634 (1904).

[48]) Damals verfügte man noch nicht über die katalytische Hydrierung und war für die Vinyl-haltigen Chinatoxine die Reduktion ihrer Keton- zur Alkohol-Gruppe mittels Aluminiumpulver in alkoholischer Lösung bei Gegenwart von Natriumäthylat. P. Rabe u. K. Kindler, B. 51, 466 (1918), noch nicht aufgefunden.

[49]) B. 51, 1360 (1918); 64, 2488 (1931).

[50]) Die Benennung der Chinatoxine als Ketone der Chinatoxane erleichtert das Verständnis der genetischen Zusammenhänge und entspricht der B. 55, 523 (1922) vorgeschlagenen Bezeichnung Rubatoxan für das den Chinatoxinen zugrunde liegende zweifach substituierte Propan.

[51]) M. Heidelberger u. W. A. Jacobs, Journ. Am. Chem. 44, 1098 (1922).

Monobromhydrate mit Phosphorbromid behandelt, aus den gewonnenen 9-Brom-hydro-cinchotoxanen H zur Schließung des Ringes BrH abgespalten und endlich aus dem Reaktionsprodukt mühsam zwei kristalline Verbindungen von der prozentischen Zusammensetzung und dem neutralen Charakter einer h-Desoxy-Verbindung B herausgearbeitet. Von ihnen ist die eine nach Kristallform, Schmp. und optischem Drehungsvermögen identisch mit dem h-Hydro-cinchonin, die andere als eine nach rechts drehende kristalline Verbindung nicht identisch mit dem öligen nach links drehenden h-Desoxy-hydro-cinchonidin (siehe die Tabelle auf Seite 140). Da nun die beiden synthetisierten Desoxy-verbindungen in ihren Eigenschaften einander nahe stehen, sei die vom Schmp. 122° als *Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin* aufgeführt.

Demnach existieren nicht nur zwei h-Desoxy-verbindungen, welche die Theorie voraussieht, sondern drei. Erst nach weiteren Erfahrungen wird man imstande sein, zu erkennen, worauf die Isomerie von h-Desoxy-hydro-cinchonin und Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin beruht[52]).

VI. Erweiterung des Chinuclidin-rings und Verengerung des Homochinuclidin-rings durch Umesterung

Der zweite Weg der Ringerweiterung ist die Umesterung. Auf ihn waren Rabe und W. Hochstätter[53]) bei der Aufklärung einer Angabe von J. Suszko und A. Tomanek[54]) gestoßen. Diese fußten auf einer Regel von H. Philipps[34]), nach der optisch aktive sekundäre Alkohole eine Waldensche Umkehrung erleiden, wenn ihre p-Toluol-sulfonsäureester durch Erhitzen mit Kaliumbenzoat in Aethanol umgeestert werden. Sie hatten die Umesterung auf Cinchonin angewandt und waren über p-Toluol-sulfonyl-cinchonin[55]) zu einem Benzoesäureester und aus ihm durch Verseifung zu einem Alkohol gelangt, Verbindungen, die sie für „Benzoyl-epi-cinchonin" und „Epi-cinchonin" hielten[56]), aber nach

[52]) Hingewiesen sei auf die Ausführungen zur Hypothese des asymmetrischen dreiwertigen N-Atoms (Rabe, B. **55**, 525 [1922]); V. Prelog, E. Cerkovnikov u. Ustricco, A. **535**, 37 (1938); W. Hückel, Theor. Grundlagen der org. Chem. 3. Aufl. I, 61 u. II, 57), auf den Unterschied in der Basizität von h-Desoxy-hydro-cinchonin und Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin und auf die Ausführungen über „Verdichtung" und „Wasserstoffbindung", oben auf Seite 141).

[53]) A. **514**, 65 (1934).

[54]) Rec. **52**, 18 (1933).

[55]) Bei der Umsetzung von Cinchonin mit p-Toluolsulfochlorid tritt nicht schon, wie Rabe u. Hochstätter[53]) angenommen hatten, eine Umlagerung in die h-Reihe ein. Denn alle bisher untersuchten h-Verbindungen sind neutral, während p-Toluol-sulfonyl-cinchonin „sehr schwach basisch gegen Lackmus reagiert." Das gleiche gilt für p-Toluol-sulfonyl-hydro-cinchonin. Siehe auch J. Suszko u. F. Szelag, Bull. Intern. Acad. Polon. **1936**, 406.

[56]) Suszko u. Tomanek haben eine Waldensche Umkehrung bei der Verwandlung von Cinchonin in „Epi-cinchonin" angenommen, weil „ein direkter Anhaltspunkt bezüglich der Strukturidentität von Epi-cinchonin und Cinchonin auf einer von A. Claus (B. **13**, 2294 [1880]) angegebenen Reaktion gewonnen wurde. Epi-cinchonin-chlorbenzylat mit wäßriger Lauge gekocht erleidet nämlich eine Toxin-Spaltung" in das „N-Benzyl-cinchotoxin", identisch mit dem Benzyl-cinchonin von

Rabe und Hochstätter[53]) h-Benzoyl-cinchonin und h-Cinchonin sind[57]).

Die *Ringerweiterung* ist *umkehrbar*. Als h-Hydro-cinchonin-bromid mit Silberbenzoat in Aceton bei Raumtemperatur geschüttelt wurde, entstand ein Gemisch von Benzoesäureestern, nach deren Verseifung etwa je ein Viertel der theoretischen Menge an h-Hydro-cinchonin und Hydro-cinchonin abgetrennt wurde. Bei der Umesterung verlaufen also zwei Prozesse nebeneinander her, der eine ohne Änderung der Konstitution (und wohl in Analogie mit den Vorgängen bei der Umesterung des Epi-hydro-cinchonin-bromids unter Wechsel der Konfiguration), der andere unter Änderung der Konstitution, der Rückbildung des Chinuclidin-Ringes. Demnach sind *Ringerweiterung und Ringverengerung umkehrbare Prozesse.*

VII. Mechanismus der Ringerweiterung und Ringverengerung

Der Aufklärung des Mechanismus liegen folgende Erkenntnisse zugrunde: 1. Die Ringverengerung ist die Umkehrung der Ringerweiterung; 2. Die Ringveränderungen vollziehen sich unter Ausschluß von Wasser; sie sind entweder Umsetzungen mit Phosphorbromid oder Umesterungen; 3. Diese Umesterungen sind Ionen-reaktionen, weil was nach Seite 139 für eine Umesterung unter Erhaltung der Konstitution abgeleitet wurde, in analoger Weise für eine Umesterung unter Änderung der Konstitution gilt. — Es handelt sich um folgende Vorgänge, wobei die unter Änderung der Konstitution verlaufenden, durch einen gestrichelten Pfeil gekennzeichnet sind:

a) Hydro-cinchonin —(Phosphorbromid)→ Hydro-cinchonin-bromid; Epi-hydro-cinchonin-bromid; h-Hydro-cinchonin-bromid

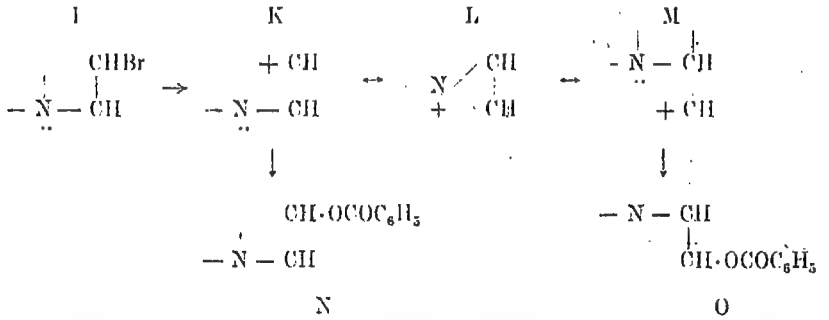
b) p-Toluol-sulfonyl-hydrocinchonin —(K-benzoat; Äthanol)⇢ h-Benzoyl-hydro-cinchonin-bromid

c) h-Hydro-cinchonin-bromid —(Ag-benzoat; Aceton)→ Benzoyl-hydro-cinchonin

Claus. Diese Begründung enthält zwei Irrtümer. Erstens ist die von jenen zur Spaltung verwendete Substanz nicht das Chlorbenzylat des „Epi-cinchonins", also des h-Cinchonins gewesen, sondern das Chlorbenzylat des durch Umesterung des p-Toluol-sulfonyl-cinchonins mitentstandenen Epi-cinchonins, Schmp. 82—83° (Rabe, A. 492, 262 [1932]). Denn wie auf Seite 158 gezeigt ist, erhält man aus dem Chlorbenzylat des h-Cinchonins durch Lauge nicht das Benzyl-cinchonin von Claus. Zweitens ist dieses Benzyl-cinchonin gar nicht das Keton „N-Benzyl-cinchotoxin", sondern ein Äthylenoxyd; siehe die folgende Mitteilung: Spaltung der Halogenalkylate von China-alkaloiden in Äthylenoxyde.

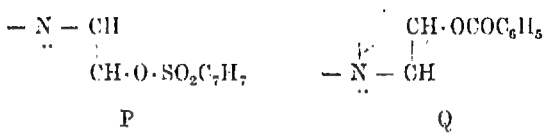
[57]) Rabe u. Hochstätter hatten „Epi-cinchonin" zum h-Hydro-cinchonin katalytisch hydriert.

Wir beginnen mit c, weil bei ihm zwei nebeneinander verlaufende Ionenreaktionen festgestellt wurden, eine Tatsache, welche die Aufklärung wesentlich erleichtert. Aus dem h-Bromid I entsteht unter dem Zuge der Silberionen des Silber-benzoates einerseits Silberbromid,



andererseits das Carbenium-Ion K mit einer Oktettlücke und einem einsamen Elektronenpaar am N-Atom, bzw. durch Verlagerung von Elektronen eine Metamerie zwischen den drei Grenzzuständen K ↔ L ↔ M; dann wird zur Neutralisation das Benzoat-Ion aufgenommen und zwar in Richtung K zu h-Benzoyl-hydro-cinchonin N und in Richtung M zu Benzoyl-hydro-cinchonin O, aber nicht in Richtung L, was wegen der Unbeständigkeit des Äthylenimin-Ringes nicht geschieht.

Im Falle b wird vom p-Toluol-sulfonyl-hydro-cinchonin P das metamere System M ↔ L ↔ K geliefert. Die Aufnahme des Benzoat-Ions wurde nur in der Richtung M zu h-Benzoyl-hydro-cinchonin Q beobachtet.



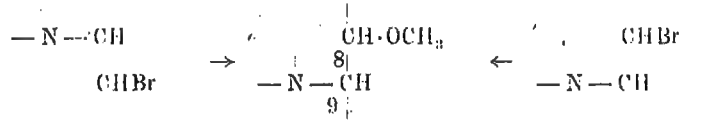
Im Falle a entspricht die Bildung des h-Bromids einerseits der Ringerweiterung bei b, andererseits der Ringverengerung bei c. Da diese Ringveränderungen als Ionenreaktionen erkannt sind, so hat man die Bildung des h-Bromids und mithin auch die Bildung der beiden anderen Bromide als Ionenreaktionen aufzufassen. Im Reaktionsknäuel betätigen sich also Phosphorpentabromid und Hydro-cinchonin als heteropolare Substanzen, indem neben $POBr_3$ und BrH das Carbenium-Ion M bzw. der Zwischenzustand M ↔ L ↔ K entsteht; dann wird zur Neutralisation das Br-Ion entweder in Richtung K ohne Änderung der Konfiguration zu Hydro-cinchonin-bromid, mit Änderung der Konfiguration zu Epi-hydro-cinchonin-bromid oder in Richtung M unter Änderung der Konstitution zu h-Hydro-cinchonin-bromid angelagert.

VIII. Ringerweiterung unter Bildung von hetero-Äthern.

Die auf Seite 139 beschriebene Umsetzung des Epi-hydro-cinchonin-bromids mit Silber-benzoat in Aceton[58]) hatte unter Erhaltung der

[58]) Siehe hierzu Seite 152 und Fußnote 33.

Konstitution, aber unter Wechsel der Konfiguration zu Benzoyl-hydrocinchonin geführt. Verwendet man aber als Lösungsmittel Methanol, so entsteht auffallenderweise unter Ringerweiterung zu mehr als 90% ein *Methyläther*, dessen Konstitution durch seine Bildung aus *h-Hydro-cinchonin-bromid* mittels einer Natriummethylat-lösung[59]) sicher gestellt wurde:



Dieser Aether Schmp. 122° ist also *9-(Chinolyl-4')-3-aethyl-8-methoxy-homochinuclidin* oder *h-Hydro-cinchonin-methyl-äther*. Er ist als Methyläther I zu unterscheiden von dem isomeren *h-Hydro-cinchonin-methyläther II* Schmp. 139°[60]). Diesen gewinnt man aus Hydrocinchonin-bromid mittels Silber-benzoat und Methanol, aber nicht allein, sondern zusammen mit einer anderen h-Verbindung, dem *h-Benzoyl-hydro-cinchonin*[61]).

Hiernach hängt der Verlauf der Umsetzung stereoisomerer Bromide der Chinuclidin-Reihe von ihrer Konfiguration ab[62]).

Gleich Epi-hydro-cinchonin-bromid haben alle bisher gebrauchten Bromide und Chloride der China-alkaloide, sofern sie mit ihm dieselbe Konfiguration haben, 90% und mehr h-Äther gegeben[63]).

Was den *Mechanismus* der Ringerweiterung bei der Bildung von h-Äthern betrifft, so vollzieht sie sich über den metameren Zustand M ⇄ L ⇄ K von Seite 146. Fraglich ist, ob zuerst eine h-Benzoyl-

[59]) Wohl unter Waldenscher Umkehrung.

[60]) Wegen der Asymmetrie-Zentren 8 und 9 sind vier h-Hydro-cinchonin-methyläther möglich.

[61]) Nach diesem zweiseitigen Verlauf ist anzunehmen, daß bei der in Äthanol vorgenommenen Umsetzung der p-Toluol-sulfonsäureester des Cinchonins und Hydro-cinchonins (sie haben die gleiche Konfiguration wie Hydro-cinchonin-bromid) mit K-benzoat je ein h-Äthyläther mitgebildet wurde. Sie wären h-Cinchonin-äthyläther II und h-Hydro-cinchonin-äthyläther II zu nennen.

[62]) Das gleiche gilt in Bezug auf die Reaktionsgeschwindigkeit; denn unter gleichen Bedingungen wurde Brom bei der Einwirkung von Silberbenzoat und Methanol viel rascher aus Epi-hydro-cinchonin-bromid herausgenommen als aus Hydrocinchonin-bromid.

[63]) Dem h-Hydro-cinchonin-methyläther I analoge h-Äther sind verhältnismäßig leicht herzustellen, da man nicht nur von den Epi-bromiden, sondern auch von den leichter zugänglichen Epi-chloriden der China-alkohole ausgehen und die Halogenide mit anderen organischen Silbersalzen als Ag-benzoat einschließlich Ag_2CO_3 und einem beliebigen Alkohol umsetzen kann; siehe DRP. 623694 von C. F. Boehringer Söhne GmbH., Mannheim-Waldhof, C. 36, I, 2775; Friedländer, 22, 575 (1939). Dort sind die h-Äther als „Äther der China-alkaloide" aufgeführt.

verbindung gebildet wird[64]), die der Alkoholyse verfällt, oder gleich ein h-Äther. Offensichtlich sind stereochemische Verhältnisse von Einfluß; daher müßte zur Aufklärung die Untersuchung auf die Säureester des Hydro-cinchonidins und Epi-hydro-cinchonidins ausgedehnt werden; außerdem wäre die Zusammensetzung der aus Bromiden und p-Toluol-sulfonsäureestern gewonnenen Produkte genauer zu ermitteln.

Der dritte der theoretisch möglichen vier h-Methyläther wurde aus h-Hydro-cinchonidin-bromid durch Kochen mit Phtalimid-silber und Methanol bereitet. Er stellt ein Öl dar. Seiner Herkunft nach ist er *h-Hydro-cinchonidin-methyläther* zu nennen.

IX. h-Verbindungen aus Chinin und Hydro-chinin

Nach Entdeckung des h-Hydro-cinchonins war es unser Bestreben, h-Chinin und h-Hydro-chinin herzustellen, um deren Verhalten bei Malaria und anderen Wechselfiebern zu prüfen. Die begonnene Untersuchung konnte aus äußeren Gründen nicht zu Ende geführt werden. Bei der Umsetzung beider Alkaloide mit Phosphorbromid wurde je ein Paar epimerer Bromide unter Erhaltung des Chinuclidin-Ringes gewonnen, aber ein h-Bromid war nicht zu fassen. Wie bei den alkalischen Bromiden aus Hydro-cinchonin, so ist auch hier das stärker basische das betreffende Epibromid.

Chinin-bromid	ölig	Hydro-chinin-bromid	Schmp. 129°
Epi-chinin-bromid	Schmp. 156°	Epi-hydro-chinin-bromid	Schmp. 158°

Von diesen Bromiden diente bisher zur Darstellung eines h-Alkohols nur Epi-hydro-chinin-bromid: es gab mit Silber-benzoat in Aceton *h-Benzoyl-hydro-chinin*, woraus bei der Hydrolyse *h-Hydro-chinin* als ein Öl hervorging.

Die Umesterung eines p-Toluol-sulfosäureesters mit K-benzoat führte beim Chinin zu keinem positiven Ergebnis[65]), so daß die Umwandlung des *Chinins* in einen h-Alkohol noch aussteht. Dieser Alkohol würde entweder identisch oder isomer mit dem natürlichen h-Chinin[63]) sein.

[64]) Für die direkte Bildung der h-Äther bei der Umesterung scheinen zwei Tatsachen zu sprechen: Beim Versuch mit dem Bromwasserstoffsäureester des Epihydro-cinchonins, Ag-benzoat und Methanol war die Umsetzung nach einstündigem Kochen beendet, hauptsächlich unter Bildung von h-Hydro-cinchonin-methyläther II, dagegen waren bei einem Versuche mit dem p-Toluol-sulfonsäureester des Hydrocinchonins, K-benzoat und Äthanol nach 76stündigem Kochen etwa 70% h-Benzoylhydro-cinchonin vorhanden.

[65]) *Chinidin* läßt sich nach J. Suszko u. F. Szelag, Bull. Intern. Acat. Polon, 1936, 405 mit *p-Toluol-sulfonyl-chlorid* unter Benutzung von Lauge sehr gut, unter Benutzung von Pyridin gut esterifizieren.

Die Ringerweiterung zu einem h-Äther war beim Epi-chinin-bromid und Epi-hydro-chinin-bromid zu erreichen: jenes lieferte mit Ag_2CO_3 und Methanol *h-Chinin-methyläther*, dieses mit Ag-benzoat und Methanol *h-Hydro-chinin-methyläther*, Verbindungen von gleicher Konfiguration, da der erste Äther bei der katalytischen Hydrierung in den zweiten übergeht.

Der C. F. Boehringer und Söhne GmbH., Mannheim-Waldhof, bin ich für die gewährte Unterstützung zu großem Danke verpflichtet.

Beschreibung der Versuche

Umsetzung der Alkaloide der Hydro-cinchonin-Gruppe mit Phosphorbromid

Methodisches. Für Verwendung von ½ Mol Alkaloid und bei steter Benutzung eines Rührwerkes wird zuerst ein Gemisch von 80 g Br_2 (½ Mol), 271 g PBr_3 (1 Mol) und 525 g $CHCl_3$ so lange in einer Eis-Kochsalz-Mischung gekühlt, bis unter Abscheidung von PBr_5 die anfänglich rote Farbe der Lösung in Gelb übergegangen ist; dann wird die auf — 5° abgekühlte Auflösung bzw. Aufschlämmung des Alkaloides in 600 ccm $CHCl_3$ hinzugegeben. Nach etwa ½ St. wird das Reaktionsgemisch allmählich auf 50° erwärmt, noch 2 St. bei dieser Temperatur gehalten, wobei sich eine harzige, manchmal kristalline Masse abscheidet, und schließlich auf Eis gegeben unter Durcharbeitung dieser Masse. Von etwa ausgefallenem Hydro-bromid wird abfiltriert, die erhaltene wäßrige Lösung zur Entfernung von $CHCl_3$ mit Äther ausgeschüttelt und dann unter Kühlung mit überschüssigem Ammoniak versetzt. Die basischen Anteile werden mittels Äther gesammelt. Ihre Aufteilung beruht auf Unterschieden in der Löslichkeit der Produkte und ihrer Salze und besonders auf Verwendung der systematischen fraktionierten Verteilung[12]).

Umsetzung von Hydro-cinchonin. Bei der Aufteilung des Rohproduktes wurden folgende Salze zu Hilfe genommen: für Epi-hydro-cinchonin-bromid das in Äthanol schwerlösliche Monobromhydrat, für Hydro-cinchonin-bromid und h-Hydro-cinchonin-bromid die in starker Salpetersäure schwerlöslichen Dinitrate, für Hydro-cinchen das in Äthanol schwerlösliche saure d-Tartrat[66]).

Versuch von Scheel[4]). Aus 100 g Hydro-cinchonin, 180 g PBr_3 und 53 g Br_2 wurden 85 g Rohbase gewonnen. Aus ihrer ätherischen Auflösung fielen 12,5 g h-Hydro-cinchonin-bromid aus, eine Erscheinung, die sich bei keinem der späteren Versuche wiederholt hat. Der ölige Rückstand der Mutterlauge wurde in 8 Fraktionen zerlegt. Die erste und zweite (0,2 g und 4,5 g) erstarrten teilweise und gaben beim Anrühren mit wenig Äther noch 4,5 g h-Bromid, so daß insgesamt 14% des angewandten Alkaloides als h-Bromid gefaßt wurden. Die dritte bis fünfte Fraktion (9,0 g; 14,5 g; 8,5 g) bestanden aus einem mit wenigen Kristallen durchsetzten Öl. Aus der fünften wurde Hydro-cinchen isoliert. Die sechste bis achte (dreimal je 19,0 g) erstarrten vollständig und enthielten Epi-hydro-cinchonin-bromid.

Versuch von Dussel. 150 g Hydro-cinchonin lieferten 170 g Rohbase. Aus ihr wurden zuerst 51 g saures d-Tartrat des Hydro-cinchens und 42 g Monobromhydrat des Epi-bromids gewonnen. Dann wurde die restliche Base (89 g) in 12 Fraktionen aufgeteilt. Die achte bis zehnte (10,0 g; 11,3 g; 10,7 g) gaben noch 30,5 g und die

[66]) Zu ermitteln wäre noch die Löslichkeit der sauren d-Tartrate des Hydro-cinchonin-bromids und des h-Bromids.

elfte und zwölfte (7,5 g; 2,5 g) noch 5,8 g des obigen Mono-bromhydrats. Die zweite Fraktion (5,8 g) enthielt 4,4 g h-Hydro-cinchonin-bromid, die z. T. aus der ätherischen Lösung auskristallisierten, z. T. aus der ätherischen Lösung über das Dinitrat in folgender Weise erhalten wurden: es wurde der ölige Rückstand der ätherischen Lösung mit der hinreichenden Menge conc. HNO_3 aufgelöst, dann etwa so viel Wasser wie Säure hinzugefügt, am andern Tage das ausgefallene Salz mittels Glasfritternutsche abgesaugt, mit wenig HNO_3-haltigem Wasser ausgewaschen und das h-Bromid in Freiheit gesetzt. Die öligen Fraktionen 3 bis 7 (8,0 g; 11,3 g; 10,6 g; 6,0 g; 2,0 g) wurden einzeln wie eben beschrieben auf Dinitrat verarbeitet. Aus den 5 Dinitrat-Fraktionen wurden insgesamt 25,3 g des nicht ganz reinen, öligen Hydro-cinchonin-bromids erhalten. Aus den Mutterlaugen der 5 Fraktionen wurden noch 4,4 g Hydro-cinchen isoliert. Das Gesamtergebnis dieses Versuches ist in Mengen und Prozenten auf Seite 137 zu finden.

Umsetzung von Epi-hydro-cinchonin. Aus 110 g Epi-hydro-cinchonin resultierten 105 g Rohprodukt und aus ihm 20,0 g Epi-hydro-cinchonin-bromid und 49,5 g Hydro-cinchonin-bromid. Ein h-Bromid war nicht aufzufinden.

Umsetzung von Hydro-cinchonidin und Epi-hydro-cinchonidin. Hier ist die Aufarbeitung des Reaktionsproduktes dadurch erleichtert, daß keines der Bromide ölig ist, daß Hydro-cinchonidin-bromid (a) in Äthanol schwerer löslich ist als Hydro-cinchen und daß Epi-hydro-cinchonidin-bromid (b) in Äther sehr schwer löslich ist.

Der Versuch mit Hydro-cinchonidin sei geschildert. Schon vor der fraktionierten Verteilung fiel die Hauptmenge von b an. Die restliche Base wurde in 8 Fraktionen zerlegt. Es enthielten die beiden ersten Fraktionen das neutrale h-Hydro-cinchonidin-bromid, die dritte bis fünfte ein Gemisch von a und Hydro-cinchen, die sechste und siebte b, die achte ein Gemisch von b und wenig Hydro-cinchonidin. Jenes Gemisch wurde in der doppelten Menge Alkohol heiß gelöst, a schied sich aus, aus der Mutterlauge von a wurde das Hydro-cinchen als saures Tartrat abgetrennt und aus der Tartrat-Mutterlauge der Rest von a isoliert. So resultierten aus 300 g Hydro-cinchonidin 189 g Epi-hydro-cinchonidin-bromid, 37 g Hydro-cinchonidin-bromid, 6 g h-Hydro-cinchonidin-bromid und 12,3 g Hydro-cinchen.

Der Versuch mit Epi-hydro-cinchonidin gab 8% d.Th. an Epi-hydro-cinchonidin-bromid und 53% an Hydro-cinchonidin-bromid; ein h-Bromid war nicht zu fassen.

Hydro-cinchonin-bromid

Das erst über das Dinitrat und dann über das Monobromhydrat gereinigte Bromid ist ein gelbliches, sehr zähes Öl; leicht löslich in Äther und Äthanol, unlöslich in Wasser. $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol $= +41{,}7°$, geht bei Berührung mit Wasser in das feste *Dihydrat* über. Farblose Prismen, Schmp. 61—62° unter Trübung, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol $= +36°$.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. Br 22,25 Gef. Br 22,35.
$C_{19}H_{23}N_2Br \cdot 2H_2O$ (395,1) Ber. H_2O 9,11 Gef. H_2O 9,16.

Das *Dinitrat* dient zur Abscheidung. Zu seiner Bereitung wurden die Auflösung des Bromids in möglichst wenig konz. HNO_3 vorsichtig mit H_2O verdünnt. Farblose Kristalle vom Zersp. um 187°. Schwer löslich in starker HNO_3, leicht löslich in H_2O. $[\alpha]_D^{20}$ in Wasser $= +19{,}4°$.

$C_{19}H_{23}N_2Br \cdot 2HNO_3$ (485,16) Ber. HNO_3 25,98 Gef. HNO_3 26,45.
(Indikator Poiriers Blau).

Das *Monobromhydrat* $C_{19}H_{23}N_2Br \cdot HBr$ (440,05) in alkoholischer Lösung dargestellt: farblose Kristalle vom Zersp. um 190° und $[\alpha]_D^{19}$ in Äthanol $= +43{,}7°$; mäßig löslich in Äthanol.

Epi-hydro-cinchonin-bromid

Aus Äther farblose Prismen, Schmp. 102°, $[\alpha]_D^{18}$ in Äthanol = +75,9°; in den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln außer Ligroin leicht löslich.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. Br 22,25 Gef. Br 21,96.

Monobromhydrat. Farblose Kristalle vom Zersp. um 200°, sehr schwer löslich in Wasser und Äthanol.

Hydro-cinchonidin-bromid

Aus Äther oder Äthanol grünstichige Kristalle; Schmp. 160°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = +12,4°; mäßig löslich in Äther oder Äthanol.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. Br 22,25 Gef. Br 22,34.

Monobromhydrat. Schmp. 212°; mäßig löslich in Äthanol.

Dinitrat. Schmp. 183° (Zers.), schwer löslich in verd. HNO_3, löslich in Wasser.

Epi-hydro-cinchonidin-bromid

In Äthanol schwer, in Äther sehr schwer löslich. Prismen vom Schmp. 154° und $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = −9,5°.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. C 63,49 H 6,46
Gef. „ 63,81 „ 6,44.

Das *Dinitrat* blieb ölig. *Monobromhydrat*: aus Äthanol farblose Kristalle vom Schmp. etwa 210° u. Zers.

Reduktion der Bromide der Hydro-cinchonin-Gruppe

Sie geschah katalytisch nach M. Busch und H. Stöve[67]) mittels Wasserstoff, methylalkoholischem Kali und auf $CaCO_3$ niedergeschlagenem $Pd(OH)_2$[68]). Nach Aufnahme von 1 Mol H_2 war die Reaktion beendet. Die isolierte Base war bei den Versuchen mit Hydro-cinchonin-bromid und Epi-hydro-cinchonin-bromid identisch mit *Desoxy-hydro-cinchonin* (Schmp. 74—75°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = +150,8°); bei den Versuchen mit Hydro-cinchonin-bromid und Epi-hydro-cinchonidin-bromid identisch mit *Desoxy-hydro-cinchonidin* (gef. Schmp. 52°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = −65,5°)[69]).

Hydrolyse von Bromiden der Hydro-cinchonin-Gruppe

Sie wurde noch nicht durch Ag_2SO_4 und verd. H_2SO_4 erreicht, wohl aber durch $AgNO_3$ und verd. HNO_3[70]).

Hydro-cinchonin-bromid. 30 g, eingesetzt als 38,8 g nicht gereinigtes Dinitrat wurden mit 21 g $AgNO_3$ und 280 ccm H_2O 12 St. gekocht. Die aus der tiefbraun ge-

[67]) B. 49, 1063 (1916).

[68]) Später zeigte Gustav Hagen, Dissert. Hamburg 1934, S. 35, daß sich Chinahalogenide leicht mittels Pd-mohr in alkoholischer Lösung katalytisch reduzieren lassen.

[69]) Zu den Desoxy-Verbindungen siehe A. 492, 255 u. 256 (1932).

[70]) Die Nebenwirkung der HNO_3 als Oxydationsmittel stört nur in präparativer Hinsicht. Silberacetat und Essigsäure kommen nicht in Betracht, weil Essigsäure Toxinspaltung hervorrufen würde.

färbten Lösung abgeschiedene Base war Br-frei. Aus ihr wurden isoliert 5,9 g Epi-hydro-cinchonin, 0,2 g Hydro-cinchonin, eine geringe Menge h-Hydro-cinchonin und 3 g Hydro-cinchen.

Epi-hydro-cinchonin-bromid. Je 3 g Bromid und $AgNO_3$ wurden mit 20 ccm 2n-HNO_3 144 St. gekocht. Die Herausnahme von Br war nicht beendet. Gewonnen wurden außer 0,2 g unverändertem Epi-bromid 1,2 g Hydro-cinchonin.

Nach diesen Versuchen hängt bei den epimeren Bromiden die Haftfestigkeit des Br-Atoms von der Konfiguration ab.

Überführung der Bromide in Anhydro-base

Die Abspaltung führt bei den vier Bromiden zu einem Gemisch, bestehend aus dem bekannten Hydro-cinchen (Schmp. 147°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = +57°) und einem Öle[71]). Es enthält das diastereoisomere *Iso-hydro-cinchen*, dessen Schmp. bei etwa 90° und $[\alpha]_D$ in Äthanol bei etwa +10° liegen dürfte. Denn aus einem solchen Öle, gewonnen aus Epi-hydro-cinchonidin-bromid, wurde durch Verteilung eine Fraktion gewonnen, dessen kristalliner Anteil beim Umlösen aus Petroläther eine Substanz vom Schmp. 75—81° mit nicht ganz klarer Schmelze und $[\alpha]_D$ in Äthanol = +11—12° lieferte. Die Abspaltung wurde vorgenommen entweder wie bei den China-chloriden durch Kochen mit alkoholischem Kali oder durch Kochen mit verd. Essigsäure bei Gegenwart von Natriumacetat, oder bei Raumtemperatur durch Einwirkung von Natrium-äthylat-Lösung. Der letzten Abspaltung wurden Hydro-cinchonin-bromid und Epi-hydro-cinchonin-bromid unter gleichen Bedingungen unterworfen. Auflösungen von je 5 g Bromid in 50 ccm Natriumäthylat-Lösung, enthaltend 1,5 g Na, blieben bei Raumtemperatur stehen; beim Versuch mit Hydro-cinchonin-bromid schied sich früher und rascher NaBr aus als beim andern. Das beim ersten Versuch nach 14 Tagen erhaltene Rohprodukt war Br-frei und hatte $[\alpha]_D$ in Äthanol = +55,6°, das andere nach 20 Tagen erhaltene Rohprodukt war auch Br-frei und hatte $[\alpha]_D$ in Äthanol = +29,0°[72]).

Umsetzung von Epi-hydro-cinchonin-bromid mit Silber-benzoat in Aceton

Der erste Versuch wurde in Äthanol-haltigem Aceton vorgenommen und hatte die indirekte Hydrolyse des Bromids zum Ziel. Er hat, wie oben erwähnt, zur Entdeckung der hetero-Äther geführt. Er sei zur Beschreibung der Methode geschildert [Scheel[1])].

60 g Epi-bromid, 7,7 g frisch bereitetes Silber-benzoat und 1 l solchen Acetons wurden in einer braunen Flasche 48 Std. geschüttelt. Zur Aufarbeitung wurde das Ungelöste und der durch Eindampfen der Lösung i. V. erhaltene Rückstand mit starkem Ammoniak und Äther behandelt. Die Ätherauszüge hinterließen 58 g eines Br-freien Öles. Dieses gab nach der Verseifung mit alkoholischer Natronlauge ein Öl, aus dessen ätherischer Lösung 12 g Hydrocinchonin ausfielen. Das in der Lösung hinterbliebene Öl (32 g) gab bei der fraktionierten Verteilung 7 Fraktionen. Die drei ersten (6,6 g) bestanden aus *h-Hydro-cinchonin-äthyläther*, Schmp. 143° (siehe Seite 158), die vierte 2,1 g mit $[\alpha]_D$ in Äthanol = 16,1° enthielt 0,2 g Hydro-cinchonin; in den öligen Fraktionen 5—7 (3,8 g; 5,5 g; 4,7 g) mit $[\alpha]_D$ = +7,5°, −4,8°, −5,7° befand sich eine stärker basische Substanz, die nicht näher untersucht wurde.

[71]) Solche Öle erhält man auch bei Versuchen mit den China-chloriden.

[72]) Nach den Werten von $[\alpha]_D$ zu urteilen, macht sich auch bei der Abspaltung der Unterschied in der Konfiguration bemerkbar.

Versuch mit reinem Aceton. 20 g Epibromid, 30 g Ag-benzoat und 100 ccm Aceton gaben 19 g Br-freies Öl. Aus ihm wurden über das mit verd. Salzsäure dargestellte *Monochlorhydrat des Benzoyl-hydro-cinchonins* (Schmp. 221—226°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol — 28,6°) 9 g *Benzoyl-hydro-cinchonin* (Schmp. 120° und $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol — 24°) erhalten.

Umsetzung von Hydrochinin und Chinin mit Phosphorbromid

Die Umsetzung von Hydro-chinin geschah in Anlehnung an die oben beschriebene Methode. Aus dem Reaktionsprodukt wurden bisher zwei alkalische Bromide isoliert, von denen nach Seite 138 das schwächere basische, das Hydro-chinin-bromid, Schmp. 128—129°, das stärker basische das Epi-hydro-chinin-bromid, Schmp. 158° darstellt. Ein neutrales, der h-Reihe angehörendes Bromid wurde nicht gefaßt; ebensowenig das bekannte Hydro-cinchen bzw. das noch nicht bekannte Iso-hydro-cinchen. Die Isolierung und Reinigung der Bromide wird durch Löslichkeitsunterschiede erleichtert. Das Epibromid ist in Äther schwerer löslich als das andere. Von den Monobromhydraten ist das des Epi-bromids das in Äthanol schwerer lösliche, von den Dibromhydraten das des Epi-bromids das in Wasser leichter lösliche. Erhalten wurden an Epi-hydro-chinin-bromid 47,7%, an Hydro-chinin-bromid 22,6% d. Th.

Hydro-chinin-bromid. Aus Methanol farblose Prismen, Schmp. 128—129° u. Zers. $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = + 96,8°.

$C_{20}H_{25}ON_2Br$ (389,1) Ber. Br 20,56 Gef. Br 20,61.

Epi-hydro-chinin-bromid. Aus Methanol fast farblose grünstichige Nadeln, Schmp. 158° u. Zers.; $[\alpha]_D$ in Äthanol = — 56,5°.

$C_{20}H_{25}ON_2Br$ (389,1) Ber. Br 20,56 Gef. Br 20,36.

Die Umsetzung von Chinin[1], [5] führte zu einem Rohprodukt, aus dem als stärker basisches Bromid das Epi-chinin-bromid, Schmp. 156° und als schwächer basisches Bromid das ölige Chinin-bromid isoliert wurden. Das aus 40,3 g Chinin in Chloroform mittels Phosphor-bromid (aus 100 g PBr_3 und 18 g Br_2) erhaltene Reaktionsprodukt gab eine wäßrige Lösung. Aus ihr wurden beim Behandeln mit Ammoniak und Äther gewonnen 31 g festes Epi-bromid und als Ätherrückstand ein Öl. Nach dem schwächer basischen Bromid wurde in denjenigen aus dem Öl gewonnenen Fraktionen gesucht, die einen bei etwa + 75° liegenden Drehwert hatten, in der Annahme, es bestünden annähernd dieselben Differenzen in den Drehwerten der Paare Epi-chinin-bromid — Epi-hydro-chinin-bromid und Chinin-bromid — Hydro-chinin-bromid. Das so isolierte Chinin-bromid konnte nur in öliger Form erhalten werden, trotzdem es über das Dibromhydrat gereinigt war.

Chinin-bromid, ein Öl mit $[\alpha]_D^{14}$ in Äthanol = + 81,1°.

$C_{20}H_{23}ON_2Br$ (387,1) Ber. C 62,0 H 5,99
Gef. „ 50,3 „ 5,6.

Dibromhydrat, gewonnen aus acetonischer Lösung des Chinin-bromids durch Zugabe von überschüssigem BrH als hellgelbes Pulver.

$C_{20}H_{23}ON_2Br \cdot 2HBr$ (548,9) Ber. Br 43,7 Gef. Br 42,8.

Epi-chinin-bromid, aus Methanol fast farblose grünstichige Nadeln; Schmp. bei 156° u. Zers., $[\alpha]_D^{18}$ in Äthanol = — 36,6°.

$C_{20}H_{23}ON_2Br$ (387,1) Ber. Br 20,65 Gef. Br 20,70°.

Derivate des Homochinuclidins

Sie wurden erhalten

1. aus China-alkaloiden durch Erweiterung des Chinuclidin-Ringes
   a) bei Umsetzung mit einem Gemisch von Phosphorpenta- und tribromid [und auch mit Phosphorpentachlorid[73])];
   b) bei Umesterung von p-Toluol-sulfonsäureestern mit Kaliumbenzoat in Äthanol[73]),
   c) bei Umsetzung von China-bromiden oder China-chloriden mit dem Gemisch eines organischen Silber-salzes wie Silber-benzoat und eines Alkoholes[74]),
2. aus Hydro-cinchotoxin durch Schließung zum Homo-chinuclidin-Ring[74]),
3. aus der China-Rinde[75]).

Im folgenden wird zuerst der Ringschluß und werden dann die auf den verschiedenen Wegen dargestellten hetero-Verbindungen nach Herstellung, Eigenschaften und Verhalten beschrieben.

1. Synthese des h-Desoxy-hydro-cinchonins und Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonins.

Sie geht nach Seite 143 vom Hydro-cinchotoxin aus. Zu beschreiben ist nur die Umsetzung der epimeren Hydro-cinchotoxanole[51]) zu Bromiden und der Ringschluß. Man arbeitete ähnlich wie nach Seite 149, indem man zuerst 113 g des Gemisches der Hydro-cincho-toxanole gelöst in Chloroform mittels trockenem BrH in die neutralen Monobromhydrate verwandelte, wobei sich ein Öl abschied, dann PBr_3 und Br_2 zugab und zur Vollendung der Reaktion in Gegenwart von Glasperlen auf der Maschine schüttelte. Nach Zerlegung des Reaktionsgemisches wurde das basische Produkt in Benzol gedrückt, wobei 76,6 g einer schmierigen Substanz ungelöst blieb (diese löste sich in $CHCl_3$ und entfärbte $KMnO_4$-Lösung sofort). Die benzolische Lösung wurde über K_2CO_3 gekocht. Sie hinterließ 32 g Br-freies Öl, das z. T. kristallin erstarrte. Die durch Abnutschen und Waschen mit Aceton erhaltenen Kristalle waren 1,3 g *Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin*, Schmp. 104°. Das Öl gab in alkoholischer Lösung mit verd. Essigsäure neutralisiert und mit JK-Lösung versetzt 11,6 g Monojodhydrat. Die aus 10,6 g des Salzes gewonnene Base wurde in Äther gelöst. Aus der ätherischen Lösung schieden sich 3 g ab. Aus deren Auflösung in 40 ccm Äthanol fielen nach dem Versetzen mit Wasser bis zur beginnenden Trübung allmählich 1,8 g eines Gemisches von nadelförmigen und gedrungenen Kristallen aus. Sie wurden durch *Auslese* von

[73]) A. 514, 64 (1934) und diese Mitteilung.
[74]) Diese Mitteilung.
[75]) B. 74, 725 (1941). Hier muß es S. 728 genauer heißen: Die Reinigung gelang über das neutrale Sulfat durch fraktioniertes Eindunsten über Schwefelsäure in 3 Stufen in einem schräg gestellten Rundkolben unter jedesmaligem Drehen um etwa ⅓; das Gewicht der Lösung verringerte sich bei schwachem Minderdruck auf 8,2 g, dann auf 4,8 g, beide Male unter Absetzen einer fest am Boden haftenden bräunlichen Substanz, endlich bei gewöhnlichem Druck auf 2,5 g unter Abscheidung farbloser Kristall-Aggregate. Isoliert wurden 0,0468 g Sulfat.

einander getrennt und aus Petroläther umgelöst. Erhalten wurden weitere 1,3 g Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin als gedrungene Kristalle vom Schmp. 104° und 0,4 g *h-Desoxy-hydro-cinchonin* als Nadeln vom Schmp. 113°.

Diese h-Desoxy-Verbindungen stehen sich in ihrer Aceton-Löslichkeit so nahe, daß die Zerlegung ihres Gemisches auch durch *abwechselndes Animpfen*, ausgehend von gesättigten Lösungen, möglich war. Aus 13,7 g eines wie oben gewonnenen Gemisches der Monojodhydrate wurden 8,3 g Base isoliert. Ihre Auflösung in der doppelten Menge heißem Aceton wurde sofort nach dem Erkalten mit den Nadeln, Schmp. 113°, geimpft. Nach 24 Std. wurden durch Abfiltrieren und Waschen mit ganz wenig Aceton 0,8 g vom Schmp. 113° erhalten. Die in der Mutterlauge und dem Waschaceton verbliebenen 7,5 g wurden wie eben beschrieben behandelt, nur wurde mit der Substanz Schmp. 104° geimpft; erhalten 0,7 g, Schmp. 104°. In gleicher Weise wurde beim Animpfen gewechselt, aber erst nach 48 Std. abfiltriert. So fielen weiter an: 0,3 g, Schmp. 113°; 0,5 g, Schmp. 104°; 0,6 g, Schmp. 113°; 0,6 g, Schmp. 104°. Schließlich wurden die gesammelten Fraktionen je der beiden Substanzen aus Petroläther ohne zu impfen umkristallisiert.

2. h-Hydro-cinchonin- und h-Hydro-cinchonidin-Reihe

h-Desoxy-hydro-cinchonin war vor der Synthese (S. 154) durch katalytische Reduktion von h-Hydro-cinchonin-bromid hergestellt worden. Die Reduktion des h-Bromids geschah nach S. 151. Dabei resultierte eine feste Substanz, die aus Petroläther umkristallisiert wurde.

$C_{19}H_{24}N_2$ (280,2) Ber. C 81,37 H 8,63 N 10,00
Gef. ,, 81,35 ,, 8,52 ,, 10,25.

Mol.-Gew. Ber. 280,2 Gef. in Campher 291 und 274.

Aus Äther, Aceton oder verd. Äthanol Nadeln oder feine Stäbchen, die an beiden Enden abgeschrägt sind und sich zu Drusen zusammenschließen. Leicht löslich in Äther, Äthanol und Aceton, schwer löslich in Petroläther. Schmp. 113°. Neutral gegen Lackmus, p_H geschätzt unter 7,5. Entfärbt schwefelsaure $KMnO_4$-Lösung nicht sofort. Wichtig ist die Konstanz seines optischen Drehungsvermögens; $[\alpha]_D^{18}$ in Äthanol = +140,3°; der Drehwert einer frisch bereiteten 1proz. alkoholischen Lösung blieb bei Raumtemperatur während 14 Tagen konstant.

Monojodhydrat bereitet mit berechneten Mengen Essigsäure und KJ in verd. Alkohol, farblose, wasserfreie Kristalle, Schmp. bei langsamen Erhitzen von 218—221°; reagiert sauer.

$C_{19}H_{24}N_2.HJ$ (307,2) Ber. J 31,10 Gef. J 30,42.

Iso-h-Desoxy-hydro-cinchonin. Diese bei der Synthese (S. 154) mit gewonnene Substanz kommt aus Aceton in gedrungenen Kristallen vom Schmp. 104°, $[\alpha]_D^{18}$ in Äthanol = +122,0° und p_H geschätzt = 7,5, gleicht in seinen Eigenschaften dem h-Desoxy-hydro-cinchonin, auch darin, daß der Drehwert einer frisch bereiteten alkoholischen Lösung sich nicht änderte. Mischschmp. 73—78°.

$C_{19}H_{24}N_2$ (280,2) Ber. C 81,37 H 8,63 N 10,00
Gef. ,, 81,20 ,, 8,80 ,, 10,13.

Mol.-Gew. Ber. 280,2 Gef. in Campher 272,6.

Monojodhydrat, farblos, wasserfrei, Schmp. bei langsamen Erhitzen um 246°, Mischschmp. der beiden Jodhydrate um 215°. Reagiert sauer.

h-Desoxy-hydro-cinchonidin wurde durch katalytische Reduktion des h-Hydro-cinchonidin-bromids (Seite 157) als ein nicht erstarrendes Öl erhalten. $[\alpha]_D^{22}$ in Äthanol = + 23,7°.

h-Hydro-cinchonin

Der früher gegebenen Beschreibung[76]) ist hinzuzufügen: Gegen $KMnO_4$ ist es längere Zeit beständig. Mit Diazomethan setzt es sich nicht um. Durch Kochen mit 20proz. H_2SO_4 wird es nicht verändert.

Beim längeren Erhitzen mit verd. Essigsäure erleidet es keine Toxin-Spaltung, wird aber langsam irgendwie angegriffen; so wurden aus je 1 g Hydro-cinchonin, 4 ccm Eisessig und 12 ccm H_2O zurückgewonnen, nach 24 Std. 0,6 g, nach 96 Std. 0,15 g und das daneben vorhandene Öl (0,3 g bzw. 0,7 g) gab keine Toxin-Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure.

Monojodmethylat. Aus Äthanol, in welchem es sehr schwer löslich ist, farblose Kristalle vom Zersp. 224°.

$C_{20}H_{27}ON_2J$ (438,1) Ber. J 28,97 Gef. J 28,92.

Beim Kochen mit verd. Essigsäure und Na-acetat wird es nicht zu einem Toxin aufgespalten.

Benzoyl-h-hydro-cinchonin entsteht als *Monochlorhydrat* aus h-Hydro-cinchonin und Benzoyl-chlorid in benzolischer Lösung und zwar, weil h-Hydrocinchonin eine geringere Basizität besitzt als Hydro-cinchonin, nicht schon bei Raumtemperatur[77]), sondern erst beim Erhitzen. Die daraus in Freiheit gesetzte Benzoyl-Verbindung kommt aus Äther in farblosen Kristallen, Schmp. 139—141°, $[\alpha]_D^{21}$ in Äthanol = — 18,2°.

h-Hydro-cinchonin-bromid wurde sowohl aus h-Hydrocinchonin wie aus Hydro-cinchonin mittels Phosphorbromid dargestellt. Die zweite Darstellung ist schon Seite 149 beschrieben. Für die erste wurden 13,5 g h-Hydro-cinchonin umgesetzt. Das erhaltene Rohprodukt gab durch Zerlegung mit Wasser eine wäßrige Lösung; aus ihr schied Ammoniak eine voluminöse Masse ab, die erst mittels Filter, dann mittels Nutsche isoliert, gewaschen und über H_2SO_4 getrocknet wurde. Erhalten 5,6 g. Aus ihrer alkoholischen Auflösung kristallisierten 1,1 g h-Bromid; aus der Mutterlauge wurden über das Dinitrat noch 0,8 g h-Bromid abgetrennt. Ausbeute 21% d. Th.

Das h-Bromid ist leicht löslich in Äthanol, schwer löslich in Äther oder Petroläther. Aus Äther farblose Blättchen, Schmp. 130—131° und $[\alpha]_D^{22}$ in Äthanol — + 182°. Neutral gegen Lackmus.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. C 63,49 H 6,46 Br 22,25
Gef. „ 63,24 „ 6,37 „ 22,12.

Dinitrat, wie das des Hydro-cinchonin-bromids hergestellt, ist schwer löslich in starker Salpetersäure, leicht in Wasser. Aus Wasser farblose Nadeln, Zersp. 158 bis 160°, $[\alpha]_D^{18}$ in Wasser = + 79,3°.

$C_{19}H_{23}N_2Br \cdot 2HNO_3$ (485,16) Ber. HNO_3 25,98 Gef. HNO_3 26,02.

(Indikator Poiriers Blau).

[76]) A. 514, 68 (1934).
[77]) B. 74, 728 Fußnote 14 (1941).

Monobromhydrat, leicht löslich in Äthanol.

Bei der *Reduktion* des h-Bromids nach Busch und Stöve[67]), bildet sich h-Desoxy-hydro-cinchonin. Schmp. 113°.

Hydrolyse. 2 g h-Bromid, 2 g Ag_2SO_4 und 70 ccm 5proz. H_2SO_4 wurden 1 Std. gekocht. Das Reaktionsprodukt war Br-frei und beständig gegen $KMnO_4$. Auch beim Erhitzen mit alkoholischem Kali erfolgt Hydrolyse, wobei ein Teil unter *Ringverengerung* in Hydro-cinchonin übergeht. Bei einem Versuch mit 3 g h-Bromid, 15 g KOH und 15 ccm H_2O resultierte nach 7stündigem Kochen 2,6 g Rohprodukt. Es war Br-frei, reduzierte $KMnO_4$ nur schwach und lieferte bei der Behandlung mit Äther 0,5 g Hydro-cinchonin. Ob ein h-Alkohol mit entstanden war, wurde nicht untersucht. Anders bei der

Umsetzung von h-Hydro-cinchonin-bromid mit Silber-benzoat

Aus ihr gingen etwa gleiche Mengen der Benzoyl-Verbindungen des h-Hydro-cinchonins und Hydro-cinchonins hervor. Bei der Behandlung nach Seite 152 bekam man nämlich aus 2,0 g h-Bromid, 2,4 g Ag-benzoat und 33 ccm Aceton 2,2 g bromfreies Öl, daraus durch Verseifung 1,3 g kristallisierte Base und aus diesem Basengemisch durch fraktionierte Kristallisation 0,5 g Hydro-cinchonin (Schmp. 268°) und 0,4 g h-Hydro-cinchonin (Schmp. 202—205° und $[\alpha]_D^{19}$ in Äthanol = 153,6°).

h-Hydro-cinchonidin-bromid erhält man aus Hydro-cinchonidin und Phosphorbromid nach Seite 150. Aus Äther farblose Kristalle; Schmp. 145°; $[\alpha]_D^{21}$ in Äthanol = −49,1°. Neutral gegen Lackmus.

$C_{19}H_{23}N_2Br$ (359,12) Ber. N 7,80 Gef. N 7,70.

Dinitrat, Schmp. 164°.

Bei der *Reduktion* geht es über in das ölige h-Desoxy-hydro-cinchonidin von Seite 156.

h-Hydro-cinchonin-methyläther I.

Gewinnung aus h-Hydro-cinchonin-bromid. 4,9 g Bromid wurden mit 40 ccm Natrium-methylat-Lösung, enthaltend 3 g Na, 72 Std. gekocht. Als Reaktionsprodukt wurden 4,8 g Öl isoliert. Die durch Verteilung erhaltene mittlere Fraktion war ein Öl, aus dessen ätherischer Lösung 1 g Äther I auskristallisierte.

Gewinnung aus Hydro-cinchonin-bromid. Je 30 g nicht besonders gereinigtes Bromid und frisch bereitetes Silber-benzoat in 200 ccm Methanol wurden bei Ausschluß der Luftfeuchtigkeit 12 Std. unter Rühren und Rückfluß gekocht. Dann wurde das Reaktionsprodukt nach Entfernen des Alkohols mit starkem Ammoniak und Äther behandelt und der Rückstand der ätherischen Lösung, 24 g eines Br-freien Öles, durch Verteilung in 6 Fraktionen zerlegt. Erhalten wurden aus der ersten bis dritten Fraktion 3,2 g h-Benzoyl-hydro-cinchonin, aus der vierten 1,9 g Hydro-cinchen, aus der fünften 2,5 g Methyläther I und aus der sechsten 2,4 g Hydro-cinchonin (entstanden bei der Aufarbeitung durch Verseifung des gebildeten Benzoyl-hydro-cinchonins).

h-Methyläther I aus Äther farblose, tafelförmige Kristalle, Schmp. 136—139° und $[\alpha]_D^{19}$ in Äthanol = + 172,9°, gegen Lackmus neutral, gegen Universalindikator von Merck etwas schwächer basisch als der h-Methyl-äther II, p_H geschätzt = 6,5.

$C_{20}H_{26}ON_2$ (310,25) Ber. OCH_3 10,01 Gef. OCH_3 9,91.

h-Hydro-cinchonin-methyläther II.

Gewinnung aus Epi-hydro-cinchonin-bromid[78]). 64 g Bromid, 80 g Silberbenzoat und 500 g Methanol wurden ähnlich wie oben 1 Std. gekocht und aufgearbeitet. Das Br-freie Reaktionsprodukt (39,5 g) wurde in 6 Fraktionen zerlegt. Die ersten 5 im Gesamtgewicht von 16,3 g erstarrten kristallin und bestanden aus h-Methyläther II. (Die fünfte Fraktion [5,3 g] blieb ölig und hatte $[\alpha]_D$ in Äthanol $= +88{,}0°$. Aus dem Öl wurden 0,5 g Hydro-cinchonin abgetrennt.)

h-Methyläther II aus Äther lange, farblose Nadeln, Schmp. 121—122°, $[\alpha]_D^{19}$ in Äthanol $= -41{,}4°$; p_H geschätzt $= 7$.

$C_{20}H_{26}ON_2$ (310,25) Ber. OCH_3 10,01 Gef. OCH_3 9,97.

h-Hydro-cinchonidin-methyläther

Wurde durch Ringerweiterung aus Epi-hydro-cinchonidin-bromid bereitet. Nach 4stündigem Kochen von 36 g dieses Bromids (Schmp. 154°), 39 g Phthalimid-Silber und 500 ccm Methanol fiel als Rohprodukt ein noch Br-haltiges Öl (31 g) an. Die bei der Zerlegung in 7 Fraktionen erhaltenen Fraktionen 1 bis 6 im Gesamtgewicht von 22,4 g bestanden aus fast reinem h-Hydro-cinchonidin-methyläther; die siebte enthielt neben dem h-Äther unverändertes Bromid.

Der Äther ist im nicht gereinigten Zustande ein schwach grünliches Öl mit einem $[\alpha]_D^{23}$ in Äthanol $= +160{,}0°$.

$C_{20}H_{26}ON_2$ (310,25) Ber. C 77,37 H 8,45
Gef. ,, 77,16 ,, 8,43.

Monobromhydrat. Aus alkoholischer Lösung durch Äther zur Kristallisation gebracht, Schmp. 158°.

h-Hydro-cinchonin-äthyläther.

Nach Seite 152 wurde er zufällig entdeckt. Man gewinnt ihn aus Epi-hydro-cinchonin-chlorid[16]), indem man z. B. 10 g Chlorid, 10 g Silberbenzoat und 200 ccm Äthanol kocht. Der wie h-Methyläther II isolierte Äthyläther kristallisiert aus Äther in farblosen Nadeln vom Schmp. 143° und $[\alpha]_D^{23}$ in Äthanol $= -43{,}0°$.

$C_{21}H_{28}ON_2$ (324,45) Ber. C 77,74 H 8,70 C_2H_5O 13,90
Gef. ,, 77,78 ,, 8,66 ,, 13,90.

3. h-Cinchonin-Reihe.

h-Cinchonin. Nach Seite 145 sind die von J. Suszko und A. Tomanek als „Epicinchonin" und „Benzoylepicinchonin" bezeichneten Substanzen h-Cinchonin Schmp. 179—180° und Benzoyl-h-cinchonin Schmp. 192°. Dagegen gehört das „Chlorbenzylat des Epicinchonins" Schmp. 215—217° nicht der h-Reihe an, sondern ist ein Abkömmling des bei 82—83° schmelzenden Epi-cinchonins. Das zeigen Versuche und durch Wiederholung bestätigte Versuche von K. Dussel. Danach setzt sich h-Cinchonin, weil es neutral ist, langsamer mit Benzylchlorid um als die alkalischen China-alkohole; das entstandene h-Cinchonin-

[78]) Für präparative Zwecke würde man besser vom leichter zugänglichen Epi-hydro-cinchonin-chlorid, Schmp. 88° (Fußnote 16), ausgehen.

chlorbenzylat wird mit wässriger Lauge nicht wie die Chlorbenzylate der China-alkaloide erst beim längeren Kochen, sondern rasch in der Kälte gespalten und zwar unter Bildung eines in Aether leicht löslichen Öles; dieses Öl erstarrte nicht beim Animpfen mit dem Spaltungsprodukt aus Cinchonin-chlorbenzylat, dem Benzyl-cinchonin Schmp. 117° von Claus und Treupel[79]).

4. h-Hydrochinin-Reihe

Benzoyl-h-hydro-chinin wurde aus Epi-hydro-chinin-bromid durch Umsetzung mit Ag-benzoat in Aceton neben einem nicht näher untersuchten Öle gewonnen. Bei Verwendung von 30 g Bromid und 33 g Salz war die Umsetzung bei Raumtemperatur nach 12 Std. beendet. Das ölige Reaktionsprodukt gab beim Verreiben mit wenig Äther 6 g der Benzoyl-Verbindung, Schmp. 158—160°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = +37,6°; neutral gegen Lackmus.

$C_{27}H_{30}O_2N_2$ (414,2) Ber. N 6,76 Gef. N 6,65.

h-Hydro-chinin, durch Verseifung der Benzoyl-Verbindung bereitet: ein Öl mit $[\alpha]_D$ in Äthanol = +5 bis 6°.

h-Hydro-chinin-methyläther. 18 g Epi-hydro-chinin-bromid wurden mit 200 ccm Methanol und 12 g Ag-benzoat 10 Std. gekocht. Aus Äther Prismen, Schmp. 93°, $[\alpha]_D^{20}$ in Äthanol = +148,6°.

$C_{21}H_{28}O_2N_2$ (340,24) Ber. OCH_3 18,22 Gef. OCH_3 18,39.

5. h-Chinin-Reihe.

Von ihr sind bisher nur 2 Verbindungen bekannt; das eingangs erwähnte natürliche *h-Chinin*, Schmp. 167°[80]) und der *h-Chinin-methyläther*. Dieser wurde aus Chinin-chlorid, Schmp. 151°, mit Ag-benzoat in Methanol hergestellt und nach Seite 158 isoliert, Schmp. 107, $[\alpha]_D^{20}$, Äthanol = +175°.

$C_{21}H_{26}O_2N_2$ (338,22) Ber. OCH_3 18,39 Gef. OCH_3 18,43.

Durch katalytische Hydrierung ging er in den vorstehenden Hydro-chinin-methyläther über.

Spaltung der Halogenalkylate von China-Alkaloiden in Äthylenoxyde

Zur Kenntnis der 1,2-Hydramine, III. Mitteilung[1])

Von *Paul Rabe*, *Karl Dussel* und *Renate Teske-Guttmann*

J. Suszko und A. Tomanek[2]) hatten, wie in der vorausgehenden Arbeit erwähnt, bei ihren Versuchen über die Umesterung von Cin-

[79]) B. 13, 2294 (1880).
[80]) B. 74, 225 (1941) und oben Fußnote 75.
[1]) II. Mitteil.: B. 81, 139 (1948).
[2]) Rec. 52, 18 (1933).

chonin angenommen, das aus Cinchonin-chlorbenzylat nach der Reaktion von A. Claus durch Erhitzen mit wässriger Kalilauge gewonnene Benzyl-cinchonin[3]) stelle N-Benzyl-cinchotoxin dar und sei nach einer „gut erforschten Reaktion erhalten worden". Wäre ihre Auffassung richtig, so hätten aus den Chlorbenzylaten der isomeren Alkaloide Cinchonin und Cinchonidin nicht nur beim Erhitzen in verdünnter Essigsäure bei Gegenwart von Natriumacetat[4]), bei der „Toxinspaltung", sondern auch bei der Spaltung nach Claus[3]) ein und dieselbe Substanz hervorgehen müssen. Das ist aber nicht der Fall. Man gewinnt nämlich bei der Toxin-Spaltung das ölige N-Benzyl-cinchotoxin[5]), aber bei der Spaltung nach Claus ausgehend vom Cinchonin Benzyl-cinchonin Schmp. 117°, ausgehend vom Cinchonidin Benzyl-cinchonidin Schmp. 165°[6]). Diese beiden Verbindungen könnten nun Äthylenoxyde sein. Werden doch die quartären Ammoniumhydroxyde anderer Substanzen, die gleich den China-Alkaloiden 1,2-Hydramine sind, beim Erhitzen ihrer wässrigen Lösung unter Bildung von Äthylenoxyden gespalten[7]), genau so wie Cholin in Äthylenoxyd, Trimethylamin und Wasser zerfällt. Im Hinblick auf die „Äthylenoxyd-Spaltung" haben wir die Untersuchung auf das noch unbekannte Chlorbenzylat des Hydro-cinchonins ausgedehnt, weil dieses statt einer Vinyl- eine Äthyl-Gruppe besitzt.

Hydro-cinchonin-chlorbenzylat (Schmp. 262°) bildet bei der Toxin-Spaltung N-Benzyl-hydro-cinchotoxin, das ölig blieb, bei der Spaltung nach Claus ein Gemisch, bestehend aus (wenig) N-Benzyl-hydro-cinchotoxin und (viel) einer Substanz Schmp. 107°, nach der Benennungsweise von Claus des Benzyl-hydro-cinchonins. Sie entfärbt eine saure Kaliumpermanganatlösung nicht sofort, gibt mit Diazobenzol-sulfosäure keine Toxin-Reaktion[8]) und setzt sich weder mit Phenylhydrazin noch mit Benzoylchlorid um. Danach enthält sie weder eine Aethylen-Bindung noch eine Carbonyl-, Hydroxyl- oder Imin-Gruppe und ihr Sauerstoffatom ist ätherartig gebunden. Demnach hat man die Spaltungen nach den Darlegungen von Rabe und W. Schuler[9]) in folgender Weise zu formen.

[3]) A. Claus u. W. Treupel, B. **13**, 2294 (1880).

[4]) B. **37**, 1674 (1904); **38**, 2770 (1905).

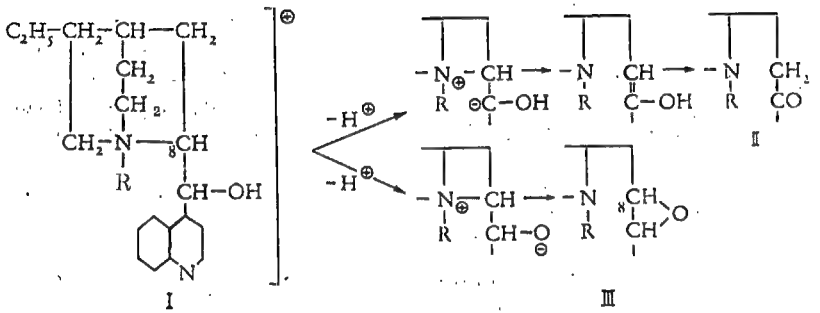
[5]) Rabe, A. **365**, 371 (1909) u. F. Braasch, Dissert. Jena 1908.

[6]) Pychlau, Disser. Freiburg, u. A. Claus, A. **269**, 252 (1892).

[7]) Rabe u. J. Hallensleben, B. **43**, 884 u. 2622 (1910); Rabe, B. **44**, 824 (1911); Th. Hunnius, Über Darstellung und Spaltung von 1,2-Hydraminen, Dissert. Jena 1912.

[8]) B. **28**, 1058 (1895).

[9]) B. **81**, 143 (1948).



I II III

wobei R Benzyl bedeutet. I ist das Kation des Hydro-cinchonin-chlorbenzylats, II N-Benzyl-hydro-cinchotoxin und III Benzyl-hydro-cinchonin oder das *Oxyd des Glykols N-Benzyl-8,9-dioxy-hydro-cinchotoxan*[10]).

Wie Benzyl-hydro-cinchonin, so gehört das obige Benzyl-cinchonin zu den Äthylenoxyden, da auch bei ihm die Toxin-Reaktion negativ ausfällt. Weiter kann es nicht zweifelhaft sein, daß das obige Benzyl-cinchonidin ebenfalls ein Äthylenoxyd ist und sich vom Benzyl-cinchonin durch die Konfiguration an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen 8 und 9 im Sinne der Formel III unterscheidet. Diese Stereoisomerie beruht letzten Endes darauf, daß Cinchonin und Cinchonidin in Bezug auf 8 und 9 optische Antipoden sind. Man hat hier analoge Verhältnisse wie beim Zerfall von Ephedrin und Pseudoephedrin in die stereoisomeren optisch aktiven Äthylenoxyde[11]).

Man geht nicht fehl, von den isomeren Basen Äthyl-cinchonin Schmp. 49—50° [12]) und Äthyl-cinchonidin Schmp. 91° [13]) wenigstens die zweite als ein Äthylenoxyd anzusehen, zumal das bei der Toxin-Spaltung angefallene N-Äthyl-cinchotoxin ölig blieb[5]).

Nimmt man zu diesen Ergebnissen die einer früheren Veröffentlichung[5]) hinzu, so folgt aus ihnen: Erstens erleiden die Halogenalkylate der China-Alkaloide in essigsaurer Lösung bei Gegenwart von Natrium-acetat die Toxin-, in wäßriger Lauge die Toxin- und Äthylenoxyd-Spaltung. Und zweitens hängt bei der Spaltung in wäßriger Lauge der Verlauf der Spaltung von der Natur der Bestandteile des angewendeten Halogenalkylates ab. So wurde bei den Halogen-methylaten des Cinchonins und Cinchonidins die Bildung von N-Methyl-cinchotoxin[4]), beim Hydro-cinchonin-chlorbenzylat die Bildung eines Äthylenoxydes und eines Toxins beobachtet.

[10]) Zur Nomenklatur siehe B. 55, 572 (1922).
[11]) Rabe, B. 44, 824 (1911).
[12]) A. Claus u. Kemperdick, B. 13, 2287 (1880).
[13]) A. Claus, B. 11, 1820 (1878).

Auffallend verhält sich Benzyl-hydro-cinchonin III als ein Aethylenoxyd gegenüber Ammoniak. Man sollte in wässrig-alkoholischer Lösung die Bildung eines 1,2-Hydramins erwarten. Aber selbst beim Erhitzen blieb es unverändert; aber als das Erhitzen unter Druck vorgenommen wurde, ward es in das isomere N-Benzyl-hydro-cinchotoxin II umgewandelt.

Beschreibung der Versuche

Hydro-cinchonin-chlorbenzylat. Die aus Hydro-cinchonin mit einem geringen Überschuß von Benzyl-chlorid in kochendem Äthanol hergestellte Substanz scheidet sich aus der tiefroten Lösung ab und wird aus Wasser umkristallisiert. Farblos, Schmp. 262°.

$C_{26}H_{31}ON_2Cl$ (420,71) Ber. Cl 8,40 Gef. Cl 8,40.

N-Benzyl-hydro-cinchotoxin.

Durch Kochen des Chlorbenzylates mit verd. Essigsäure und Natrium-acetat im CO_2-Strom wird das Toxin als ein Öl erhalten. Man gewinnt es auch durch Benzylieren von Hydro-cinchotoxin. Charakterisch ist das *saure Oxalat*, das aus 50proz. Äthanol umkristallisiert bei 130—134° schmilzt. Die über dieses Salz gereinigte Substanz blieb ölig und gab die Toxin-Reaktion.

$C_{26}H_{30}ON_2$ (386,25) Ber. C 80,78 H 7,83
Gef. ,, 81,00 ,, 7,84.

Di-pikrat des Phenyl-hydrazons. Erhalten in Äthanol durch Kochen zuerst mit Phenyl-hydrazin und wenig Eisessig, dann noch nach Zusatz von Pikrinsäure. Rote Kristalle, Schmp. 205—210°.

$C_{44}H_{42}O_{14}N_{10}$ (934,66) Ber. N 14,99 Gef. N 14,78.

Spaltung des Hydro-cinchonin-chlorbenzylates mittels Lauge.

44 g Chlorbenzylat, 440 g 10proz. Kalilauge und 300 ccm Äthanol wurden auf dem Wasserbade erhitzt. Das Reaktionsprodukt fiel z. T. kristallin aus, z. T. hinterblieb es nach Entfernung des Äthanols i. V. als Öl, das mit Äther isoliert wurde. Aus der alkoholischen Lösung beider Teile kristallisierten 23,3 g Benzyl-hydro-cinchonin aus. Der Rückstand der Mutterlauge (19 g) gab mit Oxalsäure (1 Mol: 1 Mol) in Alkohol 9,6 g saures Oxalat des N-Benzyl-hydro-cinchotoxins, Schmp. 130—134°.

Benzyl-hydro-cinchonin oder *Oxyd des Glykols Benzyl-dioxy-hydro-cinchotoxan.* Aus Äthanol farblose Kristalle Schmp. 107°. Schwerlöslich in Äthanol, sehr schwer löslich in Äther, unlöslich in Wasser.

$C_{26}H_{30}ON_2$ (386,25) Ber. C 80,78 H 7,83
Gef. ,, 81,22 ,, 7,79.

Die die Konstitution erweisenden Reaktionen sind oben angegeben.

Verhalten des Benzyl-hydro-cinchonins gegen Ammoniak.

Es wurden 10 g Benzyl-hydro-cinchonin, 50 ccm Äthanol und 15 ccm 25proz. NH_3 im Rohr 24 Std. auf 90—95° erhitzt; der beim Eindampfen der Reaktionsflüssigkeit hinterbleibende Sirup gab mit Oxalsäure das saure Oxalat des Toxins, Schmp. 132 bis 134°, in einer Ausbeute von 70%. Der aus der Mutterlauge isolierte Rest des Sirups hatte nach der Titration[14]) nicht die Zusammensetzung des erwarteten 1,2-Hydramins, sondern die des Ausgangsmateriales und gab kein saures Oxalat in kristalliner Form.

Versuche mit Cinchonin-chlorbenzylat. Gewonnen wurde es nach Claus und Treupel[2]); es hatte den angegebenen Schmp. 248°.

Toxin-Spaltung. Wie früher[4]), so entstand auch jetzt N-Benzyl-cinchotoxin als ein Öl. Das angefallene Präparat gab in alkoholischer Lösung quantitativ das saure Oxalat, Schmp. 99—101°.

Spaltung in Lauge. Aus dem Reaktionsprodukte wurde das Benzyl-cinchonin von Claus und Treupel[2]) (Schmp. 114—116° statt 117°) abgetrennt. Die Toxin-Reaktion fiel negativ aus.

(Abgeschlossen am 15. November 1948)

[14]) Ber. auf 1 g Subst. 25,88 ccm n/10-H_2SO_4. Gef. 25,05 ccm n/10-H_2SO_4 (Indikator Methylrot).

Verantwortlich für die Redaktion: Prof. Dr. H. Wieland, Starnberg Obb.; für den Anzeigenteil: Anton Burger, Berlin-Tempelhof, Attilastraße 16. — Verlag Chemie, GmbH. (Lizenz US. W. 1113 Eduard Kreuzhage), Weinheim/Bergstr. und Berlin. Printed in Germany. — Druck: Druckerei G. Braun GmbH., Karlsruhe. Auflage 3500.

Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-Einrichtungen

Düsseldorf

Sondergebiete:

1. elektrische Öfen, Trockenschränke, Potentiometer
2. glastechnische Apparate
3. Laboratoriums-Möbel in Holz- u. Eisenkonstruktion

Emulgiermaschine

„ZENITH"

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis 600 Lit. Stundenleistung zur Herstellung von Seifen, Salben, Linimenten, Aromen und Weichkrem sowie Lebertran- u. Lack-Emulsionen usw.

Einfache Handhabung
Hohe Qualität

Wilhelm Steinhorst
Leipzig N 22
Ehrensteinstr. 49

HAEMOFERTAN

Organisches Aufbaumittel auf Haemoglobinbasis

Philopharm

CHEM.-PHARM. FABRIK QUEDLINBURG

SOEBEN ERSCHIEN

F. A. HENGLEIN

Grundriß der Chemischen Technik

Ein Lehrbuch für Studierende der Chemie und des Ingenieurfaches

ein Übersichtsbuch für Chemiker und Ingenieure im Beruf

4. und 5. neu bearbeitete Auflage 1949 — gr. 4 — 636 Seiten
mit 2 farbigen und 3 einfarbigen Tafeln sowie 300 Abbildungen im Text
und 70 Tabellen — in Halbleinen DM 34.—.

Die Vorzüge des Buches sind der flüssige Stil, die lebendige Darstellung und die klare Anordnung des ungeheuren Stoffes In einem ersten Teil „Allgemeine Technologie" werden die chemisch-technischen Reaktionen Arbeitsmethoden Apparaturen Anlagen und Fabriken behandelt Am Ende dieses Abschnittes wird ein Hinweis auf den Aufbau und die Bedeutung der deutschen chemischen Industrie und die Weltkonzerne der chemischen Industrie gegeben — In dem zweiten speziellen Teil werden die chemisch technische Erzeugung von Stoffen, Veredelung von Rohstoffen der lebtosen und der lebenden Natur und die Verarbeitung von Erzeugnissen der chemischen Industrie und die Anwendung ihrer Verfahrenstechnik zur Erzeugung von Gebrauchsgütern beschrieben

Schon gleich nach Erscheinen der 1 Auflage wurde in den Besprechungen der Fachzeitschriften darauf hingewiesen, daß sich das Buch durch seine Vielseitigkeit und durch das Bestreben immer die allgemeinen Zusammenhänge im Auge zu behalten vorteilhaft auszeichne. Wesentliche Änderungen und eine beträchtliche Erweiterung des Umfangs sind die Merkmale dieser neubearbeiteten Auflage Dies entspricht der raschen Entwicklung der chemischen Technik in den letzten Jahren Weniger wichtige oder alte Verfahren wurden kürzer behandelt, die neuesten Verfahren dagegen, über die sich im Schrifttum nur verstreut Mitteilungen finden eingehend beschrieben Obwohl neue Abschnitte eingefügt worden sind konnte doch die frühere bewährte Grundeinteilung beibehalten werden So wird sicherlich auch diese neue Bearbeitung des Werkes viele Freunde und Leser finden

VERLAG CHEMIE, GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.

Wir haben die Restbestände der

Zeitschrift für das gesamte Schieß- u. Sprengstoffwesen

übernommen. Interessenten erhalten auf Anfrage genaue Mitteilungen hierüber

*

Verlag Chemie, GmbH.
Abt. Antiquariat
(17a) **Weinheim / Bergstr.**

Säureschutzbau

seit 35 Jahren!

Wir bauen
Behälterauskleidungen jeder Art

Spezialität:
Säurefeste Fußböden, Wandbeläge in bewährter Qualität und Ausführung

Liefern
Normalsteine, Normalplatten, Formplatten, Spezial-Säurekitte, Sekurit-Säurelack, Sekuritkitte

Kostenlose Beratung
Auf Wunsch Ingenieurbesuch

Friedrich Rößler
Fabrik säurefester Produkte
Bensheim/Bergstraße

CHEMIKALIEN
für Pharmazie und Technik

REAGENZIEN
in höchster Reinheit

FIXANAL-SUBSTANZEN
für die Maßanalyse

RIEDEL-DE HAËN A.-G. SEELZE BEI HANNOVER

SÄURESCHUTZBAU
HOTTELET & CO K.G
BERLIN-ZEHLENDORF · MÖLLERPFAD 5 · TEL. 731429

REAGENZIEN
FEINCHEMIKALIEN
für Industrie und Forschung
Wissenschaftliche Präparate

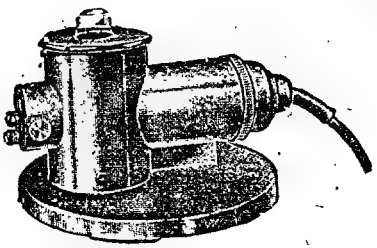
in anerkannter Reinheit liefert, wenn auch
zur Zeit noch in beschränktem Umfang

Dr. Theodor Schuchardt G.m.b.H.
Chemische Fabrik Görlitz

Zweigniederlassung Ebenhausen
Post Reichertshofen / Obb.
Telegramm-Adresse:
Schuchardt Reichertshofen

Zweigniederlassung Eisenach/Thür.
Gaswerkstraße 30
Telegramm-Adresse:
Schuchardt Eisenach
Telefon: 1515

Lichtelektrisches Becherglas-Kolorimeter



mit Reagenzglas-Einsatz
kurzfristig lieferbar
ebenso Photoelemente, Luxmeter und Ultra-Relais

DR. B. LANGE

Spezialfabrik lichtelektrischer Zellen und Apparate · Berlin-Zehlendorf, Hermannstr. 14-18 · Tel. 848122

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN
DER CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON

HEINRICH WIELAND
ADOLF WINDAUS · RICHARD KUHN

—

BAND 561 · HEFT 3

VERLAG CHEMIE · GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.

Liebigs Annalen der Chemie · Weinheim/Bergstr. 1949 · Band 561 · Heft 3 · Seiten 165—238

Inhalt

Wilhelm Treibs und Hilmar Bast, Über acylierende Oxydation von Cycloolefinen und -ketonen mit Mercurisalzen 165
Hans Heinrich Schlubach und Ilse Huchting, Untersuchungen über Fructosecanhydride XXV. Über das Pyrosin 173
Hans Heinrich Schlübach und Erwin Rathje, Untersuchungen über Fructosecanhydride XXVI. Über das Kritesin 180
Karl Winterfeld und Melanie Rink, Über die Konstitution des Viscotoxins 186
Rolf Huisgen, Heinrich Wieland und Heinz Eder, Abbauversuche an quartären Salzen des Vomicins und Desoxyvomicins. Über Strychnos-Alkaloide XXXIII 193
Johann Heinrich Helberger, Seyit Ulubay und Halidun Civelekoglu, Ein einfaches Verfahren zur Gewinnung von α-Angelicalacton und über die hydrierende Spaltung sauerstoffhaltiger Ringe 215
E. Pfeil, Über die Sandmeyersche Reaktion I. Die Bildung von Phenolen und Halogenbenzolen bei der Zersetzung der Diazoniumhalogenide. (Mit 2 Figuren im Text) 220
Carl Martius, Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyklus durch Fluoressigsäure 227
Friedrich Kiermeier, Zur manometrischen Bestimmungsmethode der Pektase. (Mit 4 Figuren im Text) 232

Für die Herren Mitarbeiter zur Beachtung

Eine wissenschaftliche Zeitschrift kann bei gleichen Herstellungskosten ihren Lesern um so mehr bringen, je knapper die einzelnen Beiträge in der Abfassung gehalten sind. Kürze der Darstellung ist dem Verständnis förderlicher als ungehemmte Weitschweifigkeit. Auf lange historische Einleitungen, wiederholte Beschreibung schon geschilderter Operationen, auf die liebevolle Charakterisierung an sich nebensächlicher Substanzen aus parallelen Reihen sollte verzichtet werden. Hier ist gedrängte Zusammenfassung im Lapidarstil am Platze.

Die Redaktion behält sich vor, Manuskripte, die den angedeuteten Grundsätzen entgegenlaufen, dem Autor zur Kürzung zurückzusenden.

Abhandlungen, deren Inhalt, wenn auch nur teilweise, schon an anderer Stelle veröffentlicht worden ist oder veröffentlicht werden soll, werden nicht aufgenommen.

Es wird besonders gebeten, die Korrekturen rasch zu erledigen. Nur dann ist das schnelle Erscheinen der Abhandlungen gewährleistet. Verzögerte Korrekturen führen zur Zurückstellung des betr. Beitrages.

Zusammengesetzte Namen sollen der Übersichtlichkeit wegen schon im Manuskript unter Anwendung von Trennungsstrichen wiedergegeben werden, z. B. Methyl-naphthyl-keton, nicht „Methylnaphthylketon".

Formeln, die wiederkehren, werden zweckmäßig mit römischen Ziffern numeriert, die einen einfachen Hinweis gestatten.

Bei der Wiedergabe der Analysen ist im allgemeinen von der Ausführung der Belegzahlen Abstand zu nehmen.

Zitate von Zeitschriften werden nach dem jetzt allgemein eingeführten Brauch abgekürzt.

Die Redaktion

Liebigs Annalen erscheinen in Bänden zu je drei Heften. Die Redaktion besorgt Prof. Heinrich Wieland, (13b) Starnberg, Obb., Schießstättstraße 12.

50 Sonderabzüge werden den Verfassern umsonst geliefert; eine größere Zahl kann zur Zeit wegen Papiermangels nur in Ausnahmefällen geliefert werden.

Abonnementspreis je Band 15,— DM. zuzügl. Versandkosten.

Copyright 1948 by Verlag Chemie, GmbH., (Geschäftsführer: Eduard Kreuzhage) Weinheim/Bergstr. — Printed in Germany — Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung, vorbehalten.

Ausgegeben am 30. Januar 1949

JUSTUS LIEBIGS
ANNALEN DER CHEMIE

561. Band

Über acylierende Oxydation von Cyclo-olefinen und -ketonen mit Mercurisalzen

Von *Wilhelm Treibs* und *Hilmar Bast*

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Universität Leipzig)

[Eingelaufen am 4. Oktober 1948]

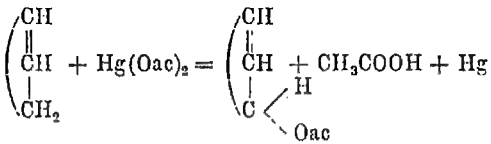
Mercurierungen, d. h. Herstellung von metallorganischen C-Hg-Bindungen durch Einwirkung von Mercurisalzen auf Olefine und Aromaten sind seit langem bekannt. Dimroth[1]), der die Mercurierung von Aromaten eingehend untersuchte, stellte fest, daß die Umsetzungen umso bereitwilliger erfolgen, je besser die Mercurisalze hydrolytisch spaltbar sind. Als gut wirksam erwiesen sich Mercuri-acetat, -nitrat und -sulfat. Geringe Umsetzung zeigte Mercuri-chlorid, während Mercuricyanid überhaupt nicht ragierte. 1947 gelang J. Romeyn und G. F. Wright[2]) die Methoxy-mercurierung von Cyclohexen mittels Mercuriacetats in Methanol. Alle diese Substitutionen und Anlagerungen greifen direkt an der Doppelbindung bzw. am aromatischen Rest an und wurden in wäßriger Lösung oder in organischen Lösungsmitteln, meist bei niedrigen Temperaturen, durchgeführt.

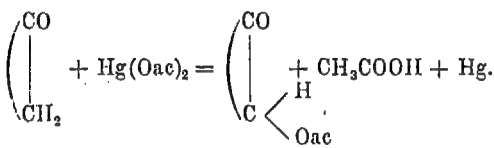
Nachdem der eine von uns (W. Treibs) festgestellt hatte, daß Cycloolefine und Ketone beim Erhitzen mit Mercuri-acetat ohne Verdünnungsmittel unter Entwicklung von Essigsäure metallisches Quecksilber ausschieden, wurde diese neuartige Reaktion zunächst an den beiden erwähnten Körperklassen eingehend untersucht. Grundsätzlich wurde festgestellt, daß die Umsetzungen von 1 Mol Cyclo-olefin oder -keton mit 1 Mol Mercuri-acetat unter Bildung von je 1 Mol Essigsäure und 1 Atom metallischem Quecksilber verlaufen, und daß dabei der 2. Essigsäurerest des Mercuri-acetats als Estergruppe an das Ringmolekül angefügt wird. Es entstehen also aus den *Cycloolefinen* die *Essigsäureester von Olefin-alkoholen* (Gl. 1), aus den *Ketonen Ketol-acetate* (Gl. 2). Zum Unterschied von den bisher untersuchten zahlreichen Mercurierun-

[1]) Vgl. Houben-Weyl: Die Methoden der org. Chemie, 2. Aufl., Leipzig 1924, 4. B., S. 929–945.

[2]) Chem. Abstr. 41, 4111 (1947).

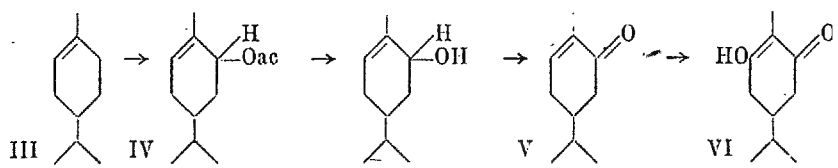
gen findet der Angriff hier an den aktivierten Methylengruppen neben der Doppelbindung bzw. Ketogruppe statt:





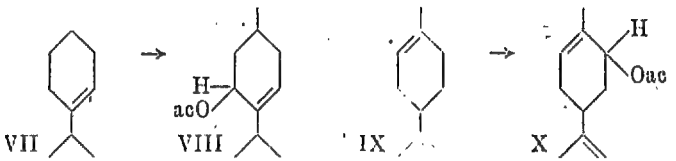
Die *präparative Ausführung* der acylierenden Oxydation mittels Mercurisalzen ist die denkbar einfachste: 1 Mol Cycloolefin bzw. Keton wird mit 1 Mol Mercuri-acetat auf dem Ölbad auf 130—150° Außentemperatur erhitzt. Die freiwerdende Essigsäure regelt die Umsetzungstemperatur und destilliert ab. Das metallische Quecksilber scheidet sich zumeist als zusammenhängender Tropfen am Boden des Kolbens aus und gestattet durch sein Gewicht den Grad der Umsetzung festzustellen. Das Reaktionsprodukt wird ohne jede Vorbehandlung durch Fraktionieren gereinigt. Die leicht siedenden cyclischen Anfangsglieder (Cyclopenten, Cyclohexen, Cyclopentanon) müssen zum Erreichen der Umsetzungstemperatur im Bombenrohr erhitzt werden.

Bei *Cycloolefinen* üben ähnlich wie bei anderen Oxydationsprozessen (SeO_2, CrO_3, molekularer Sauerstoff) vorhandene Seitenketten einen richtenden Einfluß auf die Substitutionsstelle aus. Aus *Cyclohexen* (I) wurde der Essigsäureester des Δ_1-Cyclohexenols (II) erhalten, dessen chemischer Bau durch Permanganatoxydation zur Glutarsäure bestätigt werden konnte. Recht gute Acetatausbeuten lieferten die Menthene. Δ_1-*Menthen* (III) wurde in den Essigsäureester des Carvotanacetols (IV) übergeführt, der freie Alkohol durch CrO_3-Oxydation zum Carvotanaceton (V) und anschließende H_2O_2-Oxydation zum festen Oxycarvotanaceton[3]) (VI) charakterisiert.



[3]) W. Treibs, B. **66**, 1484 (1933).

Ganz analog reagierte das *Δ_3-Menthen* (VII) mit Mercuri-acetat zum entsprechenden Ester (VIII).



VII VIII IX X

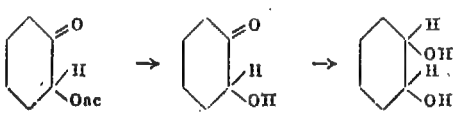
Beim *Limonen* (IX) war ähnlich wie bei der SeO_2-Oxydation die Ausbeute an Carveolacetat (X) viel schlechter, da durch Dehydrierung viel Cymol neben Diterpen entstand.

Orientierende Versuche zeigten, daß auch cyclische konjugierte *Diensysteme* (Phellandren) und *Sesquiterpene* (Cedren, Caryophyllen, Aromadendren) der acylierenden Oxydation zugänglich sind.

Über die interessanten *sterischen Verhältnisse* der acetylierenden Oxydation, d. h. die *cis-* oder *trans*-Stellung der neueintretenden Essigsäuregruppe zu den Alkylgruppen des Cycloolefins müssen besondere Versuchsreihen mit sterisch einheitlichen Ausgangskohlenwasserstoffen entscheiden.

Partiell hydrierte kondensierte aromatische Systeme wie *Hydrinden* und *Tetralin* werden merkwürdigerweise im Gegensatz zur Wirkung von anderen Oxydationsmitteln wie CrO_3, SeO_2, O_2, sogar beim Sdp., von Mercuriacetat überhaupt nicht angegriffen, so daß sie bei der acetylierenden Oxydation als Lösungsmittel Verwendung finden können.

Auch bei den *Ringketonen* sind etwaige Seitenketten für die Angriffspunkte der acetylierenden Oxydation maßgebend. Erwartungsgemäß findet die Substitution an der sterisch am wenigsten behinderten Nachbarmethylengruppe des Carbonyls statt. *Cyclohexanon* wurde in das α-Cyclohexanolon-acetat (XII) übergeführt, das bei der Natriumreduktion ein Glykolgemisch (XIII) ergab und durch Permanganat zur Adipinsäure oxydiert wurde. Der Angriff findet also im Gegensatz zur katalysierten H_2O_2-Oxydation[4]) nur in α-Stellung zur CO-Gruppe statt.

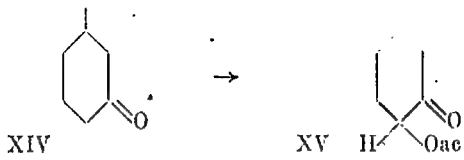


XII XIII

Beim *1-Methyl-cyclohexanon-3* (XIV) erfolgte die Substitution ausschließlich an der sterisch weniger behinderten Methylengruppe, da bei

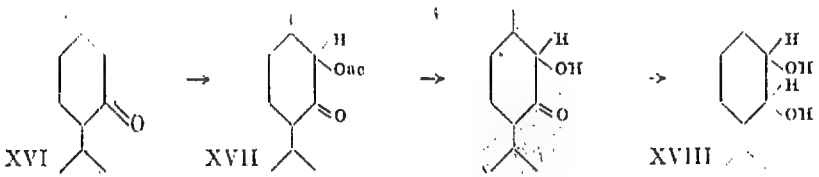
[4]) W. Treibs, B. 72, 1195 (1939).

der Permanganatoxydation des erhaltenen Ketolacetats (XV) nur β-Methyladipinsäure feststellbar war.



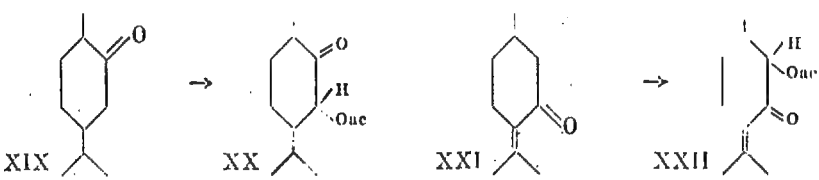
XIV XV

Menthon (XVI) ließ sich durch Erhitzen mit Mercuriacetat in guter Ausbeute in Methanon-(3)-ol-(2)-acetat (XVII) überführen. Das freie Ketol wurde durch Natrium zu einem Gemisch der stereoisomeren Glycole (XVIII) reduziert.



XVI XVII XVIII

Ganz ebenso verhielt sich das *Carvomenthon* (XIX).



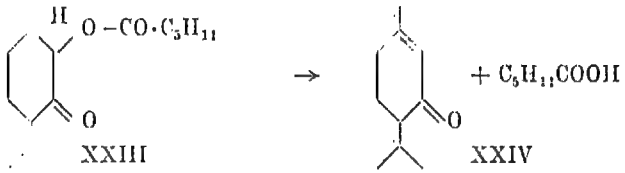
XIX XX XXI XXII

Dagegen war die Ausbeute an Ketolester beim *Pulegon* (XXI) erheblich geringer.

Auch *α-Tetralon* reagierte bereitwillig mit Mercuri-acetat, doch nahm die Reaktion leicht einen äußerst heftigen Charakter an unter völliger Verharzung des Ketons.

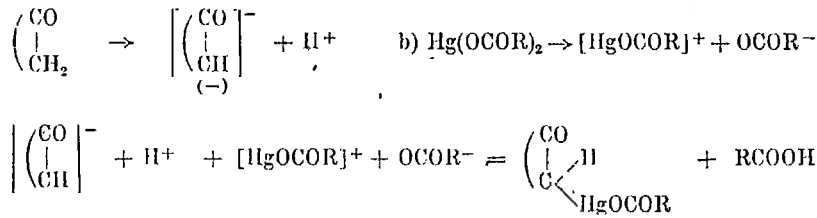
Ebenso wie das Mercuriacetat sind auch die *Mercurisalze anderer organischer Säuren* zu analogen Substitutionsreaktionen von Cyclo-olefinen und -ketonen geeignet. Beim *Mercuribenzoat* erschwert lediglich sein außerordentlich voluminöser Habitus präparativ die Reaktion. Die Mercurisalze höherer Paraffincarbonsäuren gestatten bei den gesättigten Cycloketonen die Anlage einer Doppelbindung in Nachbarschaft zum Carbonyl, da die entsprechenden α-Ketolester beim Erhitzen die Säure abspalten. Aus *Menthon* konnte so durch Umsetzung mit *Mercuricapro-*

nat über den Capronsäureester des Menthanolons (XXIII) *Piperiton* (XXIV) synthetisch erhalten werden.

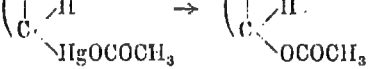


XXIII XXIV

Was die *Kinetik der acetylierenden Oxydation* angeht, so gibt das Auftreten thermisch unbeständiger mercurierter Zwischenprodukte, deren Zersetzung zu den Endkörpern führt, und die Tatsache, daß wenig oder nicht dissoziierende Quecksilbersalze wie $HgCl_2$ und $Hg(CN)_2$ sich nicht analog umsetzen lassen, den Schlüssel zum Reaktionsablauf. Man wird annehmen müssen, daß an der durch die Doppelbindung bzw. Ketogruppe aktivierten Methylengruppe ein Proton abdissoziiert unter Bildung eines Carbeniatanions (a), und daß sich an letzteres Anion ein Mercuriacetatkation (b) anlagert (c).



Die entstehende Mercuriverbindung wird dann thermisch gespalten (d). Für einen Radikalcharakter dieses Reaktionsteils spricht die Tatsache, daß die Reaktion in einzelnen Fällen einen äußerst stürmischen Verlauf nahm und die häufige Racemisierung optisch aktiver Ausgangsmaterialien.



Was nun den Geltungsbereich dieser neuartigen Abwandlung angeht, so liegt ein Vergleich mit der Bleitetraacetat-Oxydation nach Criegee[5]) und der SeO_2-Oxydation nach Riley[6]) nahe. Während die Criegeesche Umsetzung an Olefinen gleichzeitig als Addition an und als Substitution neben der Doppelbindung angreift, wirkt die acetylierende

[5]) Verlag Chemie: Neuere Methoden d. präp. org. Chemie (Berlin 1943), 25–30.
[6]) loc. cit. 4–16.

Oxydation mit Mercurisalzen nach den bisherigen Erfahrungen nur substituierend. Von der Rileyschen Reaktion unterscheidet sie sich durch größere Spezifität, da sie beim Vorliegen nur einer Doppelbindung oder Ketogruppe scheinbar auf Cyclo-olefine und -ketone beschränkt ist. Die Ursache dieser Vorzugsstellung cyclischer Verbindungen und die Ringgliederzahlen, bei denen sie eintritt, die Übertragung auf andere organische Verbindungsklassen, sowie die Verwendung von Verdünnungsmitteln werden eingehend untersucht.

Der Firma Schimmel & Co. in Miltitz danken wir für Überlassung von Versuchsmaterial.

Die Mikroanalysen wurden von R. Martin vom chemischen Institut der Universität Leipzig ausgeführt.

Beschreibung der Versuche

Präparative Ausführung

Je $^1/_{10}$ Mol Cyclo-olefin oder -keton wurden mit $^1/_{10}$ Mol (32 g) Mercuriacetat im Ölbad auf 130—150° erhitzt. Oft schieden sich zunächst vorübergehend Kristalle aus, dann setzte sich metallisches Quecksilber als Kugel am Boden ab. Nach einstündigem schwachem Sieden wurde vom Quecksilber abgegossen und letzteres gewogen. Das Reaktionsprodukt wurde bei niedrigsiedenden Körpern bei Atmosphärendruck, bei höhersiedenden i. V. fraktioniert.

Cyclohexen (I)

17 g ($^2/_{10}$ Mol) Cyclohexen und 64 g ($^2/_{10}$ Mol) Mercuriacetat wurden im Bombenrohr 2 Stunden auf 150° erhitzt, wonach 40 g Hg ausgeschieden waren. Neben viel Harz und etwas durch Dehydrierung entstandenem Benzol wurden 6,5 g *Δ_1-Cyclohexenyl-(3)-acetat* (II) erhalten, das bei 69—70° (15 mm) siedete und mit conc. Schwefelsäure eine blaue Färbung gab.

$$d_4^{20}\ 1{,}006,\quad n_D^{20}\ 1{,}4673.$$

$C_8H_{12}O_2$	Ber.	C 68,52	H 8,64
	Gef.	,, 68,71	,, 8,37.

Durch Oxydation mit $KMnO_4$ in alkal. Lösung wurde nur Glutarsäure vom Schmp. 97,5° (Mischschmp.) erhalten.

Δ_1-Menthen (III)

a) Aus 12,8 g ($^1/_{10}$ Mol) Δ_1-Menthen (d_4^{20} 0,8286, α_D^{20} — 25°, n_D^{20} 1,4596) und 32 g ($^1/_{10}$ Mol) Mercuriacetat wurden 18 g metallisches Quecksilber und nach zweimaligem Fraktionieren 10,5 g *Essigsäureester* (IV) erhalten, der bei 115° (14 mm) siedete.

$$d_4^{20}\ 0{,}9519;\quad n_D^{20}\ 1{,}45829$$

$C_{12}H_{20}O_2$	Ber.	C 73,42	H 10,27	Äquiv.-Gew.	196
	Gef.	,, 73,77	,, 10,61	,, ,, (Verseifung)	187,3.

b) Durch heiße alkoholische Verseifung des Esters wurde der *Alkohol* $C_{10}H_{18}O$ erhalten, der bei 112° (14 mm) siedete.

$$d_4^{20}\ 0{,}9284;\ \alpha_D^{20} + 0°36';\ n_D^{20}\ 1{,}47067.$$

$C_{10}H_{18}O$ (154) Ber. C 77,86 H 11,76 akt. H 1,0
Gef. „ 77,52 „ 11,88 „ „ 0,988.

c) 5 g Alkohol wurden mittels 3 g CrO_3 in 30 ccm Eisessig oxydiert. Das Rohketon (V) (d_4^{20} 0,9349; α_D^{20} 0,0°; n_D^{20} 1,47204) roch carvonartig und wurde in das kristallisierte Semicarbazon vom Schmp. 178° übergeführt, das im Gemisch mit *Carvotanaceton-semicarbazon* vom Schmp. 178—179° keine Depression ergab.

d) Das Keton wurde in alkohol. KOH mittels H_2O_2 in das krist. *Enolketon* (Oxy-Carvotanaceton VI) vom Schmp. 181° [3]) übergeführt.

Δ_3-*Menthen* (VII)

a) Aus 12,8 g Δ_3-Menthen (d_4^{20} 0,8161; α_D^{20} + 10,25; n_D^{20} 1,44375) und 32 g Mercuriacetat wurden 19 g Hg und nach zweimaligem Fraktionieren 8,6 g Ester (VIII) erhalten, der von 112—114° (14 mm) siedete. d_4^{20} 0,9489; α_D^{20} — 4,20; n_D^{20} 1,45912.

$C_{12}H_{20}O_2$ Ber. Äquiv.-Gew. (Verseifung) 196 Gef. 204,7.

Limonen (IX)

Aus 13,6 g Limonen (d_4^{20} 0,8489; α_D^{20} + 115; n_D^{20} 1,4730) und 32 g Mercuriacetat wurden 17 g Hg und neben wiedergewonnenem Limonen, Cymol und Diterpen 4,3 g *Essigsäureester* (X) erhalten, der von 128—132° (14 mm) siedete. d_4^{20} 1,0038; α_D^{20} + 4°54'; n_D^{20} 1,48486; Äquiv.-Gew. Ber. 199,8; Gef. 194,0.

Cyclohexanon (XI)

a) Aus 10 g Cyclohexanon (d_4^{20} 0,9459, n_D^{20} 1,44639) und 32 g Mercuriacetat wurden neben 3,2 g Harz und 2 g durch Dehydrierung entstandenem Phenylacetat 3 g Ketolester (XII) erhalten, der von 222—226° (760 mm) siedete. d_4^{20} 1,0811; n_D^{20} 1,45989.

$C_8H_{12}O_3$ Ber. C 61,55 H 7,70 Äquiv.-Gew. 156
Gef. „ 61,25 „ 7,50 „ „ 163,2
„ „ 157,4 (CO-Titration).

Das freie *Ketol* (Adipoin) schmolz bei 113°.

b) Durch Reduktion von 3 g Ester mit metall. Natrium in abs. Alkohol wurde das *1,2-Cyclohexandiol* (XIII) erhalten, das bei 74° (14 mm) siedete. d_4^{20} 0,9482; n_D^{20} 1,45849; aktiver H 99,6%.

c) Durch Oxydation mit alkal. $KMnO_4$ wurde der Ketolester in Adipinsäure vom Schmp. 151° (Mischschmp.) übergeführt.

1,3-Methyl-cyclohexanon (XIV)

Aus 11,5 g 1,3-Methylcyclohexanon (d_4^{20} 0,9025; n_D^{20} 1,44522), aus Pulegon und konz. Ameisensäure dargestellt, und 32 g Mercuriacetat wurden 20 g Hg und neben 1,65 g Harz 5,7 g *Ketolester* (XV) erhalten. d_4^{20} 1,0683; α_D^{20} — 2° 30′; n_D^{20} 1,46257.

$C_9H_{14}O_3$	Ber. C 63,51	H 8,29	Äquiv.-Gew.	170	
	Gef. „ 63,50	„ 8,71	„	„	170,0
			„	„	177,3 (CO-Titration).

Alkalische Permanganatoxydation ergab nur *β-Methyladipinsäure* (vom Schmp. 85,5° [Mischschmp.]).

Menthon (XVI)

a) Am Menthon wurde der Reaktionsablauf in Eisessiglösung eingehend untersucht. Beim allmählichen Erwärmen von 15 g Menthon mit 32 g Mercuriacetat und 20 g Eisessig schied sich aus der bei 80° klaren Lösung bei 100° eine kristallisierte Verbindung ab. Bei 130° erfolgte fast augenblicklich Hg-Ausscheidung. Neben 4,2 g unverändertem Menthon und 4,0 g Harz wurden 9,6 g *Ester* (XVII) (87% berechnet auf umgesetztes Menthon) erhalten, der bei 134° (14 mm) siedete. d_4^{20} 1,0190; α_D^{20} — 31,34°; n_D^{20} 1,45829.

$C_{12}H_{20}O_3$	Ber. C 67,89	H 9,47	Äquiv.-Gew.	212	
	Gef. „ 68,31	„ 9,76	„	„	210,2
			„	„	202,3 (CO-Titration).

b) Aus dem Ester wurde durch Verseifung mit 10proz. alkohol. KOH das freie *Menthanolon* (XVIII) gewonnen, das bei 111—112° (14 mm) siedete. d_4^{20} 0,9883, α_D^{20} + 1,10°; n_D^{20} 1,46356.

Ber. Äquiv.-Gew. 170 Gef. aus CO-Titration 168,5.

c) Durch Reduktion von 10 g Ketol in 100 ccm Alkohol mit 5 g Natrium wurde ein *Glykolgemisch* erhalten, das bei 140—143° (14 mm) siedete. d_4^{20} 0,9933, α_D^{20} — 2°44′; n_D^{20} 1,46978; aktiver Wasserstoff 98,8%. Das Gemisch schied beim Abkühlen ein festes Glykol vom Schmp. 92° aus[7]).

Carvomenthon (XIX)

a) Aus 15 g Carvomenthon (d_4^{20} 0,9078; α_D^{20} —22,6°; n_D^{20} 1,45710), das durch Hydrierung von Carvon dargestellt war, und 32 g Mercuriacetat wurden neben 3,5 g wiedergewonnenem Keton und 4,2 g Harz 9 g *Ketolester* (XX) (76% berechnet auf umgesetztes Keton) erhalten, der von 143—146° (14 mm) siedete. d_4^{20} 1,0150; α_D^{20} + 1,17°, n_D 1,45129.

Ber. Äquiv.-Gew. 212 Gef. 212; 196,7 (CO-Titration).

[7]) Vgl. Kondakow u. Bachtschiew, J. pr. Chem. (2) **63**, 63.

b) Durch Verseifen des Esters mit 10proz. alkohol. KOH wurde das freie *Menthanolon* gewonnen, das bei 118° (14 mm) siedete. d_4^{20} 0,9845; α_D^{20} — 42°18'; n_D^{20} 1,45639.

Ber. Äquiv.-Gew. 170 Gef. 176,2 (CO-Titration).

Pulegon (XXI)

Aus 15 g Pulegon (d_4^{20} 0,9319; α_D^{20} + 25,47; n_D^{20} 1,4699) und 32 g Mercuri-acetat wurden neben 10,7 g wiedergewonnenem Keton und 5 g Harz 2,5 g *Ketolester* (XXII) erhalten, der bei 151—153° (16 mm) siedete. d_4^{20} 1,0430; n_D^{20} 1,48553.

Ber. Äquiv.-Gew. 210 Gef. 205,3; 216,1 (CO-Titration).

Piperiton aus Menthon (XVI)

a) *Menthonyl-capronat.* Aus 15 g Menthon und 44 g Mercuricapronat (aus HgO und Capronsäure dargestellt) wurden 11 g *Ketolester* (XXIII) erhalten, der bei 180 bis 190° (16 mm) siedete. d_4^{20} 0,9807; α_D^{20} — 5,54°; n_D^{20} 1,46356.

$C_{16}H_{28}O_3$ Ber. Äquiv.-Gew. 268 Gef. 252,3; 262,3 (CO-Titration).

b) *Piperiton.* 8 g Ketolester wurden 2 Stunden am Rückfluß zum Sieden erhitzt. Das Keton (XXIV) wurde aus alkalischer Lösung mit Wasserdampf destilliert. Es zeigte den typischen Geruch des Piperitons und siedete von 105—110° (14 mm). d_4^{20} 0,9336; α_D^{20} — 18°45'; n_D^{20} 1,47922.

$C_{10}H_{16}O$ Ber. C 78,89 H 10,59
Gef. „ 78,84 „ 10,79.

Das Semicarbazon schmolz bei 221°.

Untersuchungen über Fructoseanhydride XXV[1])

Über das Pyrosin

von *Hans Heinrich Schlubach* und *Ilse Huchting.*

[Eingelaufen am 5. Oktober 1948]

Im Verhältnis zu der überragenden Bedeutung des reifen Weizenkornes für die menschliche Ernährung sind die Kohlenhydrate, die während der Entwicklung der Weizenpflanze gebildet werden und dem Aufbau des Kornes dienen, nur wenig untersucht worden.

[1]) A. 544, 111 (1940).

A. Müntz[2]), der sich als erster mit dieser Frage beschäftigt hat, nahm zunächst an, daß als Vorstufe der Stärke des reifen Kornes ausschließlich Rohrzucker anzusehen sei. Ch. Tanret[3]) entdeckte jedoch im Weizenmehl, also im reifen Korn, geringe Mengen eines Fructosans, das er mit dem von ihm aus Roggenmehl isolierten „lévosine" für identisch hielt. Dieser Ansicht haben sich H. Colin und H. Belval[4]) angeschlossen, als sie die Bildung von Fructosanen in der Weizenpflanze während verschiedener Wachstumsperioden näher verfolgten. C. J. Kruisheer[5]) hat im Gegensatz hierzu die Vermutung geäußert, daß die Fructosane im Roggen und Weizen verschieden sein könnten. Ebensowenig wie H. R. Barnell[6]), der die Verteilung sämtlicher Kohlenhydrate in der Weizenpflanze in den verschiedenen Wachstumsperioden und Organen sehr sorgfältig verfolgt hat, hat er aber den Nachweis einer tatsächlichen Verschiedenheit erbringen können.

Die Möglichkeit einer sicheren Unterscheidung wurde erst gegeben, nachdem durch die Arbeiten von H. H. Schlubach und K. König[7]) das Graminin aus dem Roggenkorn und von H. H. Schlubach und Chr. Bandmann[8]) das Secalin aus dem Roggenhalm isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt waren. Die Feststellung, daß in den Halmen und Körnern ein und derselben Getreideart in ihrem Bau vollständig verschiedene Polyfructosane gebildet werden, machte es nicht unwahrscheinlich, daß (das oder) die Polyfructosane der Weizenpflanze ebenfalls verschieden sind.

Die zunächst durchgeführte Untersuchung des in den *Halmen* der Weizenpflanze gebildeten Polyfructosans hat diese Vermutung bestätigt. Es ist sowohl von den beiden in der Roggenpflanze angetroffenen als auch von den zahlreichen anderen, bisher genauer untersuchten[9]) verschieden. Wir schlagen für dieses Polysaccharid den Namen *Pyrosin* (von πυρός = Weizen) vor, da der Name Triticin (von triticum vulgare) bereits für das aus der Quecke (agropyrum repens) isolierte Polyfructosan verwandt ist, das zweckmäßiger Agropyrin[10]) genannt worden wäre.

Das Pyrosin wurde etwa 14 Tage nach der Blüte der Weizenpflanze aus den von den Ähren befreiten Halmen durch Extraction mit siedendem Alkohol gewonnen. Wegen der großen Mengen der zugleich in Lösung gegangenen Eiweißstoffe von der Art des Gliadins gestaltete sich die Isolierung recht mühsam und verlustreich. Nach 30 Alkoholfällungen der wässerigen Lösungen wurde ein Polysaccharid mit einer konstanten Drehung von $[\alpha]_D^{20} = -30{,}0°$ (Wasser, c = 1) erhalten.

Weit besser ließ sich die Reinigung über die Acetylverbindung

[2]) C. r. **87**, 682 (1878).
[3]) Bul. Soc. [3], **5**, 724 (1891).
[4]) C. r. **175**. 1441 (1922): **177**. 343 (1923).
[5]) Rec. **50**, 153 (1931).
[6]) New. Phytol. **37**, 85 (1938).
[7]) A. **514**. 182 (1934).
[8]) A. **540**, 285 (1939).
[9]) Zusammenfassung: A. **544**, 111 (1940).
[10]) Mit „Agropyren" ist inzwischen ein von W. Treibs (B. **80**, 97 [1947] aus Queckenwurzeln isolierter Kohlenwasserstoff benannt worden.

erreichen. Nach 40 Ausfällungen ihrer benzolischen Lösungen mit Petrolaether wurde eine Triacetylverbindung mit einem konstanten Drehwert von $[\alpha]_D^{20} = +8{,}5°$ (Chloroform, c = 1) erhalten, aus der nach der Verseifung ein Polyfructosan von der Drehung $[\alpha]_D^{20} = -30{,}0°$ (Wasser, c = 1) hervorging. Die Identität der auf beiden Wegen erhaltenen Polyfructosane ergab sich außer aus den Drehungen auch aus den Halbumsatzzeiten ihrer Säurehydrolyse unter Normalbedingungen (234 und 237 Minuten). Das Pyrosin ist nur aus Fructoseeinheiten aufgebaut. Es reduziert Fehlingsche Lösung nicht. Für die Teilchengröße ergaben sich nach der kryoskopischen und der osmometrischen Methode stark abweichende Werte. Während die erstere zu einer Größe von 2—5 Fructoseeinheiten führte, errechnete sich nach der letzteren eine solche von 205—225 Einheiten. Nach dem analytischen Befund sind mindestens 5 Einheiten anzunehmen. In Anbetracht der leichten Löslichkeit und der transitorischen Funktion des Pyrosins erscheint eine Teilchengröße von mehr als 200 Einheiten zu hoch.

Die Konstitution wurde in der üblichen Weise durch Hydrolyse der Trimethylverbindung ermittelt. Es wurden eine Tetra-methyl-, eine Trimethyl- und eine Dimethyl-fructose im Verhältnis 1,4 : 3 : 1 erhalten. Der Überschuß an Tetramethyl-fructose ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß bei der Methylierung des Pyrosins eine teilweise Aufspaltung zu Fructose erfolgt ist.

Die Tetramethyl-fructose erwies sich als die bekannte 1.3.4.6-Tetramethyl-fructose.

Nach der von H. H. Schlubach und Q. Ketu Sinh[11]) aufgestellten Regel, daß diejenigen Polyfructosane, deren Acetylverbindungen eine positive Drehung aufweisen, dem Phleintypus angehören, stand zu erwarten, daß die Hydrolyse des Pyrosins die 1.3.4-Trimethyl-fructose ergeben würde. Sie wurde in der Tat erhalten und zwar, wie durch eine sorgfältige Suche festgestellt wurde, diese Trimethyl-fructose allein.

Für eine sichere Konstitutionsbestimmung der Dimethyl-fructose reichte die zur Verfügung stehende Menge nicht aus. Nach den Drehwerten handelt es sich wahrscheinlich um die gleiche 1.3-Dimethyl-fructose, wie sie aus dem Secalin und Sinistrin erhalten wurde.

Das Pyrosin gehört also dem Phleintypus an. Es besteht entweder aus einem viergliedrigen Ring von Fructoseeinheiten, der an einem Glied eine eingliedrige Fructose-Seitenkette am 4. Kohlenstoffatom gebunden enthält oder. weniger wahrscheinlich, aus einem Ring von Fructose-Einheiten, in dem an jedem Glied eine viergliedrige Seitenkette angefügt ist.

[11]) A. 544, 114 (1940).

Es steht dem Secalin aus Roggenhalmen im Bau sehr nahe, unterscheidet sich aber von ihm deutlich:

$[\alpha]_D^{20}$	Polyfructosan	Acetyl-Verb.	Methyl-Verb.	Di: Tri: Tetra
Pyrosin	−30.0	+8,5	−29,5	1:3:1
Secalin	−37.6	+3,0	−45	1:2:1

In der Drehung kommt es dem Asphodelin (—30,5)[12] sowie dem Asparagosin (—32,4)[13] nahe, unterscheidet sich aber nach den Spaltprodukten der Methylverbindungen von den beiden in seinem Bau. Alle übrigen bekannten Polyfrustosane drehen tiefer.

Nach einer von H. H. Schlubach und Q. Ketu-Sinh aufgestellten Regel ist die Differenz der Drehungswerte zwischen den Polyfructosanen und ihren Acetylverbindungen eine umso größere, je größer der Gehalt an Trimethyl-fructose ist. Da das Pyrosin einen höheren Anteil an 1.3.4-Trimethyl-fructose liefert (60%) als das Secalin (50%), sollte die Differenz bei der ersteren Verbindung (39) größer sein als bei der letzteren (41). Wie ersichtlich, fügt sich das Pyrosin dieser Regel nicht ein.

Die bisher aus den *Halmen* von Getreidearten isolierten Polyfructosane: *Secalin* aus Roggen, *Pyrosin* aus Weizen und das von K. H. Archbold und A. M. Barter[14]) aus *Gerste* gewonnene *Polysaccharid* gehören zum Phleintypus, die bisher aus den *Ähren* erhaltenen: *Graminin* aus Roggen und das *Kritesin*[15]) aus Gerste gehören dem Inulintypus an. Man gewinnt daher den Eindruck, als ob der letztere mit seinen 1.2-Bindungen eine geeignetere Vorstufe für die Stärke bildet als der erstere mit seinen 2.6-Bindungen.

Beschreibung der Versuche

Gewinnung und Reinigung des Pyrosins

Die Weizenhalme (Karstens Dickkopf V) wurden am 9. Juli 1944 und 4. Juli 1946 geerntet. Wenige Stunden nach dem Schnitt wurden die von den Ähren befreiten und feingehäckselten Halme 20 Min. mit 96proz. Alkohol ausgekocht, der abfiltrierte und abgepreßte Rückstand 20 Min. mit 50proz. Alkohol bei 100° extrahiert. Die i. V. eingeengten Auszüge wurden bei 55—60° mit basischem Bleiacetat behandelt, die vollständige Entfernung des Eiweißes durch N-Bestimmungen kontrolliert. Im Vergleich mit den beim Roggen angewandten Mengen war bedeutend mehr Bleiacetat zur vollständigen Enteiweißung erforderlich. Aus 36,5 kg Halmen mit 49,1% Trockensubstanz wurden insgesamt 850 g Rohpyrosin = 4¾% erhalten. Die Fraktionierung erfolgte durch Ausfällung der wäßrigen Lösungen mit Alkohol, der Fortschritt der Reinigung wurde hierbei durch die Drehung verfolgt. Die hierzu erforderliche Trock-

[12]) A. **532**, 200 (1937).
[13]) A. **532**, 191 (1937).
[14]) Biochem. J. **29**, 2689 (1935).
[15]) Vgl. die folgende Arbeit.

nung wurde durch 3—4stündiges Erwärmen auf 70—80° bei 0,1 mm vorgenommen. Bei 100° tritt Karamelisierung ein. Die am schwersten lösliche Fraktion wurde hartnäckig von dunkel gefärbten Stoffen begleitet. Nach 30 Umfällungen blieb die Drehung bei $[\alpha]_D^{20} = -30°$ (Wasser, c = 1) konstant. Von 400 g Rohprodukt waren 11 g übrig geblieben.

Acetyl-pyrosin. 10 g eines durch Alkoholfällungen auf $[\alpha]_D = -17°$ vorgereinigten Pyrosins wurden in 13 ccm Wasser gelöst und bis zur beginnenden Ausfällung mit Pyridin versetzt. Innerhalb von 6 Std. wurden unter lebhaftem Rühren 90 ccm frisch destilliertes Essigsäureanhydrid zugegeben, darauf innerhalb einer Stunde weitere 80 ccm und über Nacht stehen gelassen. Die klare Lösung wurde in 3 l Eiswasser gegossen, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen und über Ätzkali getrocknet. Ausbeute: 15 g = 90%. 15 g der anacetylierten Verbindung wurden in 150 ccm scharf getrocknetem Pyridin gelöst und mit 90 ccm Acetanhydrid durchacetyliert. $[\alpha]_D^{20} = +9{,}3°$ (Chloroform, c = 1). Da eine Acetylbestimmung nach R. Kuhn und Roth ergab, daß der theoretische Wert noch nicht erreicht war, wurde noch einmal nachacetyliert. Die weitere Reinigung erfolgte durch fraktionierte Fällung einer etwa 35proz. benzolischen Lösung mit Petroläther (35—55°). Die Drehung sank langsam bis auf +8,5°. Da die Drehungsunterschiede nur sehr geringe waren, wurden zur Kontrolle mehrfach Proben nach Zemplén entacetyliert. Nach 35 Umfällungen war keine weitere Änderung zu erreichen. Auch hier wurde die am schwersten lösliche Fraktion hartnäckig von Farbstoffen begleitet, die sich auch durch Wechsel des Lösungsmittels nicht abtrennen ließen.

Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter den von H. Knoop angegebenen Normalbedingungen.

Je 810,1 mg direkt (A) und über die Acetylverbindung gereinigte (B) Substanz wurden zu 50 ccm n/1-Schwefelsäure gelöst, bei 20° aufbewahrt und Proben von je 5 ccm entnommen:

A. Min.	175	225	260	300
g Cu	0,0634	0,0781	0,0874	0,0942
% Spaltung	39	48	54	58
B. Min.	165	205	235	270
g Cu	0,0608	0,0753	0,0817	0,0900
% Spaltung	37	46	50	55

Halbumsatzzeit nach graphischer Interpolation: A: 237; B: 234.

Aldosegehalt nach Auerbach-Bodländer. Während der Säurehydrolyse wurde der Aldosewert gemessen und mit demjenigen einer unter gleichen Bedingungen behandelten Fructoselösung verglichen. Er blieb 5 Std. hindurch unmeßbar und stieg nach 24 Std. auf 1,5 % an.

Drehungsänderung während der Hydrolyse

Minuten	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung	Minuten	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung
338	−56,8	37	1840	−86,4	78
483	−67,9	52	2640	−86,4	78
1345	−84,0	74			

Bestimmungen der Teilchengröße.

A. *Kryoskopisch in Wasser.*

	% Conc.	Δ t	M
A.	0,24	0,017	305
	0,46	0,027	319
	0,71	0,044	308
B.	0,35	0,020	337
	0,55	0,030	341
	0,90	0,040	330

Mittelwert für A: M = 311; B: M = 336

B. *Osmometrisch in Wasser.*

Die Bestimmungen wurden in einem Osmometer nach G. V. Schulz durchgeführt. Als Membrane waren „Ultra-fein-Filter-mittel" zu durchlässig, es mußten „Ultracella-Filter-feinst" angewandt werden. t = 30°.

	c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
A.	10,032	12,55	1,22
	5,164	5,80	1,09
	2,568	2,00	0,75

Durch graphische Extrapolation ergibt sich für $\lim \frac{p}{c}$ für $c \to 0$: 0,68 und $M = \frac{R \cdot T}{\lim p/c} = \frac{24890}{0,68} = 36603 = 226$ Fructose-Einheiten.

	c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
B.	9,344	9,83	1,03
	4,980	5,22	1,02
	2,540	2,10	0,80

Graphische Extrapolation ergibt für $\lim \frac{p}{c}$, $c \to 0$: 0,75; $M = \frac{24890}{0,75} = 33186 =$ 205 Fructose-Einheiten.

C. *Acetylverbindung kryoskopisch in Benzol*

% Conc.	Δ t	M
0,27	0,010	1357
0,70	0,027	1311
0,97	0,038	1289

Der Mittelwert 1319 liegt zwischen 4 (1152) und 5 (1440) Fructose-Einheiten.

Methyl-pyrosin

10 g Triacetyl-pyrosin in 150 ccm Aceton wurden unter Stickstoff bei 55° innerhalb von 2 Std. mit 50 ccm frisch dest. Dimethylsulfat und 135 ccm einer 30proz. Natronlauge versetzt und in der üblichen Weise aufgearbeitet.

Die Benzolextraktion des anmethylierten Pyrosins wurde solange fortgesetzt, bis die Mutterlaugen keine Aktivität zeigten. $[\alpha]_D^{20} = -29°$ (Chloroform); 39,3proz. OCH_3, Ausbeute 90%. Da der Methoxylgehalt durch Nachmethylierung mit Dimethylsulfat nicht auf den für ein Trimethyl-pyrosin berechneten gebracht werden konnte, wurde zunächst versucht, dieses Ziel durch Behandlung mit Kalium und Jodmethyl in flüssigem Ammoniak nach dem Vorgange von K. Freudenberg[16]) zu erreichen. Da aber auch diese Methode keine wesentlichen Fortschritte brachte, wurde die Permethylierung mit Silberoxyd und Jodmethyl durchgeführt. Nach vollständiger Entfernung der anhaftenden Lösungsmittel durch mehrstündiges Erwärmen auf 56° bei 1—2 mm und in Gegenwart von Silikagel und Paraffin konnte ein Methoxylgehalt von 45,9% festgestellt werden.

Hydrolyse des Methyl-pyrosins.

17,5 g Methyl-pyrosin wurden in 1 l 96proz. Äthanol gelöst, eine Lösung von 10 g Oxalsäure in 300 ccm Wasser zugegeben und bis zu der nach 26 Std. eingetretenen Drehungskonstanz auf 85° gehalten. Nach Neutralisation mit prim. Natriumcarbonat wurde die Lösung i. V. eingedampft, der Rückstand durch zweistündige Behandlung mit 200 ccm einer 0,25 proz. wäßrigen Salzsäure bei 85° nachgespalten, erneut neutralisiert und eingedampft. Durch zweimaliges Abdampfen des Rückstandes mit einem Gemisch gleicher Teile Äthanol und Benzol wurde die Hauptmenge des Wassers entfernt, der Rückstand erschöpfend mit Aceton und Chloroform ausgezogen. Das Gemisch der Spaltprodukte wurde durch 20stündige Behandlung der 2proz. Lösung in 0,25 Proz. HCl enthaltendem abs. Methanol vollständig glykosidifiziert. 15 g des erhaltenen Glykosidgemisches wurden in 8,1 g abs. Pyridin gelöst und mit 13,2 g Benzoylchlorid benzoyliert.

23,5 g des auf diese Weise erhaltenen Gemisches der Spaltprodukte wurden bei etwa 0,003 mm Druck unter Vorschaltung einer auf −78° gekühlten Vorlage destilliert:

Fraktion	Bad-Temp.	Sdp.	n_D^{20}	% OCH_3	g
I	130—150°	40— 50°	1,465	43,2	3,1
II	165—180°	55— 63°	1,447	57,7	2,3
III	190—220°	122—138°	1,484	36,2	8,8
Rückstand. . .	—	—	—	23,2	3,6

Der Inhalt der Vorlage, 5,3 g, bestand aus Resten der Lösungsmittel, denen Tetramethyl-methylfructosid beigemengt war. Nach dem Methoxylgehalt berechnet sich dessen Anteil auf 0,2 g.

Aus den vereinigten Fraktionen I und II konnten durch zweimalige Destillation 3,8 g mit einem Gehalt von 59,0proz. OCH_3 und $n_D = 1{,}450$ abgetrennt werden. Wie aus dem Auftreten geringer Mengen Benzoesäure zu erkennen war, hatte im Verlaufe der vorangehenden Operationen eine teilweise Entbenzoylierung stattgefunden, das Tetramethyl-methylfructosid war daher mit geringen Mengen Trimethyl-methylfructosid vermischt, von dem es sich durch Destillation nur sehr unvollkommen trennen läßt. Nach dem Methoxylgehalt errechnet sich ein Anteil von 2,6 g Tetramethyl-

[16]) B. **69**, 2041 (1936); **70**, 1542 (1937).

methylfructosid, mit dem Inhalt der Vorlage und einem geringen Vorlauf der Fraktion III insgesamt 3,3 g.

Aus der Fraktion III ließ sich durch erneute Destillation 7,2 g reines Trimethylbenzoyl-methylfructosid gewinnen. Sdp. 134°, 0,004 mm; n_D^{20} 1,499; OCH_3 36,2. Zusammen mit den nach ihren Methoxylgehalten errechneten Anteilen anderer Fraktionen ergaben sich 10,2 g.

Der Rückstand bestand nach dem Methoxylgehalt aus fast reinem Dimethyldibenzoyl-methylfructosid. Etwa 0,5 g gingen durch einen Brand verloren.

Bei Umrechnung der drei Komponenten auf Fructose-Anteile ergibt sich ein Verhältnis von 1,4 : 3 : 1.

Aus dem Tetramethyl-methylfructosid wurde durch Säurehydrolyse eine *Tetramethyl-fructose* mit den folgenden Eigenschaften erhalten: $n_D^{20} = 1{,}4518$; $[\alpha]_D^{20} = +31{,}4°$ (Wasser, c = 1,9): $+21{,}4° \rightarrow 17{,}5°$ (Chloroform, c = 1); OCH_3 : 52,0.

Das Trimethyl-benzoyl-methylfructosid ergab die folgende *Trimethyl-fructose*: Schmp. 75°; $n_D = 1{,}4660$; $[\alpha]_D^{20} = -51° \rightarrow -57{,}6°$ (Wasser, c = 0,8); $+3{,}4° \rightarrow -26{,}0°$ (Methanol, c = 0,6); $+10{,}0° \rightarrow +16{,}5°$ (Chloroform, c = 0,9).

Das Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid lieferte die folgende *Dimethyl-fructose*: $[\alpha]_D^{20} = -10{,}7° \rightarrow -19{,}0°$ (Methanol, c = 0,6); $-5{,}1° \rightarrow 7{,}3°$ (Chloroform, c = 0,9).

Untersuchungen über Fructoseanhydride XXVI[17])

Über das Kritesin

Von *Hans Heinrich Schlubach* und *Erwin Rathje*.

Schon frühzeitig ist das Vorkommen linksdrehender Polysaccharide in der Gerste beobachtet worden. So berichtet G. Kühnemann[18]), daß er aus ungekeimten Gerstenkörnern eine derartige Verbindung erhalten habe, die er Sinistrin nannte. A. Müntz[19]), nachdem er anfänglich das Vorkommen der von ihm im Roggen festgestellten „Synanthrose" in der Gerste verneint hatte, berichtigte sich später[20]) dahingehend, daß sie nur vor der Reife im Gerstenkorn angetroffen würde. Ch. Tanret[21]) hat dann gezeigt, daß der Gehalt an dem von ihm „lévosine" genannten Polysaccharid bei der Gerste in noch höherem Maße als beim Roggen und Weizen vom Reifezustand abhängig ist und daß sich auch im reifen Gerstenkorn ein wenn auch nur geringer Gehalt an „lévosine" nachweisen läßt. H. Colin und H. Belval[22]) haben sich dieser Ansicht angeschlossen, indem sie zu dem Ergebnis gelangten, daß die Verteilung der Lävulosane im Roggen, Weizen und der Gerste grundsätzlich die gleiche ist, nur in den Mengenverhältnissen Unterschiede bestehen.

[17]) XXV. Mitt.: A. **561**, 173 (1948).
[18]) B. 8, 387 (1875).
[19]) C. r. 87, 679 (1878).
[20]) Ann. Soc. nat. bot. (7), **1886**, 45.
[21]) C. r. **112**, 295 (1891).
[22]) C. r. **177**, 973 (1923).

Keiner der erwähnten Forscher hat sich aber mit der Frage beschäftigt, ob denn das in der Gerste angetroffene Polysaccharid wirklich mit den in den anderen Getreidearten angetroffenen identisch sei, noch weniger wurde die Frage aufgeworfen, ob es das gleiche Polysaccharid sei, das in den verschiedenen Organen einer Gerstenpflanze festgestellt wurde. Eine Beantwortung der erstgenannten ist erst durch die von H. H. Schlubach und Mitarbeitern am Roggen und Weizen[17]) durchgeführten Untersuchungen möglich geworden, für die letztere ist eine Grundlage durch die von H. K. Archbold und A. M. Barter[23]) erfolgte Isolierung eines Polyfructosans aus Gerstenblättern und die von W. N. Haworth, E. L. Hirst und R. R. Lync[24]) durchgeführte analytische Untersuchung dieses Materials gewonnen. Da beim Roggen festgestellt wurde, daß das in den Halmen gebildete Secalin von dem in den unreifen Körnern auftretenden Graminin verschieden ist, war mit der Möglichkeit zu rechnen, daß auch bei der Gerste das in den Ähren enthaltene Polyfructosan von dem in den Halmen oder Blättern angetroffenen verschieden sein könnte. Das ist in der Tat der Fall. Das aus Gerstenähren gewonnene Polyfructosan hat sich weder mit dem aus Gerstenblättern isolierten noch mit irgend einem der bisher aus Getreidearten erhaltenen Polyfructosane als identisch erwiesen. Da der von der lateinischen Bezeichnung der Gerste (hordeum sativum) abgeleitete Name schon eine andere Verwendung (Hordein) gefunden hat, schlagen wir für das neue Polysaccharid den Namen *Kritesin* (von *κριτή* = Gerste) vor.

Das Rohmaterial wurde aus Gerstenähren im Zustande der Milchreife in der üblichen Weise durch Behandlung mit kochendem Alkohol in einer Ausbeute von 3% erhalten. Die weitere Reinigung nach der Barytmethode von Ch. Tanret[25]) ergab zwar nach wenigen Umfällungen eine Verbindung von der Drehung $[\alpha]_D^{20} = -37{,}5°$ (Wasser, c = 1). Sie gestaltete sich aber so verlustreich, daß die Reinigung weiterer Ansätze über die Acetylverbindung durchgeführt wurde. Nach 90 Ausfällungen der benzolischen Lösungen der Acetylverbindung mit Petrolaether erreichte ihre Drehung einen konstanten Wert, von $[\alpha]_D^{20} = -4{,}8°$ (Chloroform, c = 1), und es konnte aus ihr durch Entacetylierung eine Verbindung von $[\alpha]_D^{20} = -37{,}2°$ zurückerhalten werden. Die Identität der auf den beiden verschiedenen Wegen erhaltenen Polysaccharide konnte durch die Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter Normalbedingungen (218 und 216 Minuten) bestätigt werden. Das Kritesin reduziert Fehlingsche Lösung nicht und gibt bei der Hydrolyse keinen Aldosewert, ist also nur aus Fructose aufgebaut. Für die Teilchengröße ergaben sich nach der kryoskopischen Methode 4—5 Fructoseeinheiten, nach der osmometrischen dagegen,

[23]) Biochem. J. 29, 2689 (1935).
[24]) Biochem. J. 31, 786 (1937).
[25]) Bull. Soc. (3), 5, 724 (1891).

ähnlich wie beim Pyrosin, weit höhere Werte. Nach dem analytischen Befund müssen mindestens 4 Einheiten angenommen werden.

Die Hydrolyse der Methylverbindung ($[\alpha]_D^{20} = -32°$ (Chloroform, c = 0,4) ergab eine Tetra-, Tri- und Dimethyl-fructose im Verhältnis von 1,12 : 2,02 : 1, also nahezu 1 : 2 : 1. Der Überschuß an Tetramethyl-fructose ist möglicherweise wie bei dem Pyrosin dadurch entstanden, daß schon während der Methylierung ein Teil des Kritesins aufgespalten und zum Tetramethyl-methylfructosid permethyliert wurde.

Die erhaltene *Tetramethyl-fructose* erwies sich als die bekannte 1.3.4.6-Tetramethyl-fructose.

Die *Trimethyl-fructose* kristallisierte auch nach Animpfung mit reiner 1.3.4-Trimethyl-fructose und längerem Stehen bei 0° nicht. Sie unterscheidet sich von dieser auch durch ihre Drehung. Sie ist aber auch nicht identisch mit der 3.4.6-Trimethyl-fructose, wie sie aus den Polyfructosanen vom Inulintypus erhalten wurde.

$[\alpha]_D^{20}$	Wasser	Methanol	Chloroform
1,3,4-Trimethyl-fructose .	−57,6	−26,0	+16,5
desgl. aus Kritesin	−23,0	+10,5	+23,0
3,4,6-Trimethyl-fructose .	+28,3	+14,9	+23,0

Nach dem Ergebnis der Osazonbildung liegt ein Gemisch von zwei Trimethyl-fructosen vor, von dem die eine die 3.4.6-Trimethyl-fructose sein kann. Denn es wurde ein Osazon ohne Abspaltung einer Methoxylgruppe erhalten. Daneben aber ein zweites Osazon, bei dessen Bildung mindestens eine Methoxylgruppe abgestoßen war. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß es sich um die 3.4.6-Trimethyl-fructose handelt, der eine andere Trimethyl-fructose beigemengt ist. Auf jeden Fall liegt nicht die 1.3.4-Trimethyl-fructose vor, die von W. N. Haworth und Mitarbeitern aus den aus Gerstenblättern isolierten Polyfructosan erhalten wurde. Das Kritesin gehört daher nicht zum Phleintyp, sondern wahrscheinlich zur Inulingruppe.

Die *Dimethyl-fructose* ist nach ihren Drehwerten identisch mit der 3.6-Dimethyl-fructose, wie sie aus Asparagosin und Graminin erhalten wurde und sicher verschieden von der 1.3-Dimethyl-fructose aus Pyrosin und Secalin.

$[\alpha]_D^{20}$	Wasser	Methanol	Chloroform
Dimethylfructose aus			
Asparagosin	+11,6°	+12,5°	+21,0°
Kritesin	+15°	+10,2°	+19,5°
Pyrosin	—	−19,0°	− 7,3°

Da Asparagosin und Graminin dem Inulintypus, Pyrosin und Secalin aber dem Phleintypus angehören, bestätigen die Eigenschaften der Dimethyl-fructose die Annahme, daß das Kritesin der erstgenannten Reihe zuzurechnen ist.

Das Kritesin nähert sich in seinen Eigenschaften am meisten dem Secalin:

	$[\alpha]_D^{20}$	H. U. Z.	$[\alpha]_D^{20}$ Acetyl	% Trimethyl-fructose	Trimethyl-fructose
Kritesin	−37,5	218	−4,8	50	3.4.6.
Secalin	−37,6	225	+3,0	50	1.3.4.

unterscheidet sich aber von diesem im Bautypus.

Für die Zuordnung des Kritesins zur Inulinreihe spricht auch die Möglichkeit, es unter Einhaltung der von H. H. Schlubach und Q. Ketu-Sinh aufgestellten Regeln[26]) in diese Reihe einfügen zu können:

Polyfructosan	A—K	% Tri	H. U. Z.	Teilchengröße
Inulin	3	100	360	30
Asparagosin	12	80	300	(20)
Sinistrin.	21	60	269	15
Graminin	33	50	222	10
Kritesin	33	50	217	4
Secalin	41	50	225	4
Pyrosin	39	60	235	5
aus Gerstenblättern. .	49	—	—	10
Poain	63	—	—	10
Lävan	66	80	—	10
Phlein	71	100	235	16

Wie aus der unteren Hälfte der Tabelle ersichtlich ist, läßt sich umgekehrt das aus Gerstenblättern isolierte Poly-fructosan recht gut in die Phleinreihe einfügen.

Es fällt auf, daß in beiden Reihen es gerade die Glieder mit der niedrigsten Teilchengröße, der stärksten Verzweigung und der leichtesten Hydrolysierbarkeit sind, die in den Halmen und Ähren der Getreidearten gebildet werden. Der transitorische Charakter dieser Polyfructosane, in dem sie sich dem Rohrzucker nähern, tritt deutlich hervor.

[26]) A. **544**, 114 (1940).

Beschreibung der Versuche

Gewinnung und Reinigung des Kritesins.

Die Gerstenähren (Ackermanns Isaria) wurden am 14. Juli 1939 im Stadium der „Milchreife" geerntet, unter Zusatz von Calciumcarbonat im Eisenmörser zerstampft und sofort mit 96proz. Alkohol 20 Min. ausgekocht. Die abfiltrierten Rückstände wurden weitere 20 Min. mit 50proz. Alkohol siedend ausgezogen, die vereinigten Auszüge bei 40° i. V. eingedampft. Aus 45 kg Gerstenähren wurden so mit 96proz. Alkohol 1122 g = 2,4%, mit 50proz. Alkohol 290 g = 0,6 %, zusammen 3% Rohprodukt gewonnen. Da nach zweimaliger Behandlung mit basischem Bleiacetat noch ein Stickstoffgehalt von 0,8% gefunden wurde, wurde die Reinigung unter Benutzung der Barytmethode von Ch. Tanret fortgesetzt. Schon nach zwei Umfällungen war die Substanz stickstoffrei, nach zwei weiteren änderte sich die Drehung nicht mehr und blieb bei $[\alpha]_D^{20} = -37{,}0°$ konstant. Aus 100 g Rohprodukt wurden so nur 3,5 g Polyfructosan erhalten, das noch einen Aschegehalt von 0,5% hatte. Durch zwei weitere Umfällungen mit Alkohol konnte er auf 0,2% gesenkt werden.

Acetyl-kritesin

10 g durch Alkoholfällungen auf $[\alpha]_D = -28°$ vorgereinigtes Rohprodukt wurden in 10 g Wasser gelöst, mit 90 ccm Pyridin versetzt, von braunen Flocken abfiltriert und bei 20° während 24 Std. unter starkem Rühren 200 ccm Essigsäureanhydrid eingetropft. Die durch Eingießen in Eiswasser ausgefällte Acetylverbindung wurde nach scharfer Trocknung in der zehnfachen Menge trocknen Pyridins gelöst und mit der zehnfachen Menge Essigsäureanhydrid nachacetyliert. Acetylbestimmungen nach R. Kuhn und Roth ergaben im Mittel einen Acetylgehalt von 44,6% (Ber. 44,8). Die Reinigung wurde durch Ausfällung der benzolischen Lösungen mit Petroläther (Sdp. 35—55°) durchgeführt. Die Drehung sank von +9,5° auf −4,8° (Chloroform, c = 1) und blieb zwischen der 80. und 90. Ausfällung konstant. Die Verseifung erfolgte ähnlich wie beim Phlein durch Schütteln mit n/1-Natronlauge. Die Drehung des scharf getrockneten Präparates betrug: $[\alpha]_D^{20} = -37{,}2°$ (Wasser, c = 1).

Kritesin

Die Halbumsatzzeiten der Säurehydrolyse unter Normalbedingungen nach H. Knoop wurden an dem nach der Barytmethode (A) und über die Acetylverbindung gereinigten Kritesin verglichen.

Je 0,8104 g A und B wurden zu 50 ccm n/1-Schwefelsäure gelöst, bei 20° aufbewahrt und Proben von je 5 ccm entnommen.

A. Min. . . .	117	150	183	210	240	270	300
mg Cu . .	46,0	58,5	76,0	78,2	84,5	94,8	102,7
% Spaltung	28,8	36,1	43,1	48,0	51,9	58,3	63,2
B. Min. . . .	110	132	160	193	220	247	270
mg Cu . .	43,0	52,8	61,7	73,1	82,2	89,0	95,8
% Spaltung	26,4	32,4	37,8	44,8	50,5	54,6	58,8

Halbumsatzzeit nach graphischer Interpolation: A: 218 Min., B: 216 Min.

Aldosegehalt nach Auerbach-Bodländer. Während der Säurehydrolyse von A wurde der Aldosewert bestimmt und mit dem einer gleichartig behandelten Fructoselösung verglichen. Er betrug anfänglich 0 und wurde erst nach 24 Std. merklich.

Drehungsänderung während der Hydrolyse

Min.	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung	Min.	$[\alpha]_D^{20}$	% Spaltung
62	−38.0	0,8	482	−72,0	53,0
121	−41.5	6,1	610	−75,3	58,1
185	−45,5	12,3	1265	−85,5	73,8
242	−53,3	21,2	1535	−86,0	74,6
305	−62,0	37,8	2885	−86,5	75,4

Bestimmung der Teilchengröße

Kryoskopisch

g Subst. in 20 g Wasser		t	M
A.	0,0839	0,010	787
	0,2059	0,022	875
	0,3371	0,038	825
B.	0,3252	0,047	645
	0,5785	0,079	682
	0,7982	0,111	668

Mittelwert für A: M = 829; B: M = 665

Osmometrisch

Im Osmometer nach G. V. Schulz mit „Ultracella-Filter-feinst".
Wasser. t = 30°

c in g/L	Steighöhe in cm	p/c
19,600	13,2	0,65
9,968	6.6	0,60
4,728	3,3	0,58
2,854	2,4	0,56

Durch graphische Extrapolation erhalten: $\lim \frac{p}{c}$, $c \to 0$: 0,53; $M = \frac{R \cdot T}{\lim p/c} = \frac{24890}{0{,}53} = 49000$.

Methyl-kritesin

Acetyl-kritesin wurde in der üblichen Weise in Aceton methyliert und durch Nachmethylierung mit Silberoxyd und Jodmethyl der Methoxylgehalt auf 45,2% gebracht. $[\alpha]_D^{20} = -32°$ (Chloroform, c = 0,47).

Hydrolyse des Methyl-kritesins

Methyl-kritesin wurde wie bei dem Methyl-pyrosin beschrieben durch Erwärmen mit äthanolischer Oxalsäure bei 85° während 20 Stdn. hydrolysiert, mit 0,25 proc. wässeriger Salzsäure nachgespalten und nach Trocknung mit Methanol glykosidifiziert, endlich in Pyridin bei

80° benzoyliert. Durch wiederholte fraktionierte Destillation konnten 32,46 g des erhaltenen Gemisches zerlegt werden in: 6,41 g *Tetramethyl-methylfructosid*, 16,0 g *Trimethyl-benzoyl-methylfructosid* und 10,0 g *Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid*, entspr. 4,16, 7,52 und 3,72 *Fructose* und einem Verhältnis der Komponenten von 1,12 : 2,02 : 1.

Die aus dem Tetramethyl-methylfructosid erhaltene *Tetramethylfructose* zeigte die folgenden Werte:

$[\alpha]_D^{20} = +30{,}5°$ (Wasser, c = 1,2); + 18,5 (Methanol, c = 1.5); + 16,5° (Chloroform, c = 1,1); $n_D^{20} = 1{,}4500$; 52proz. OCH_3.

Die aus dem Trimethyl-benzoyl-methylfructosid erhaltene *Trimethylfructose* hatte die folgenden Konstanten:

$[\alpha]_D^{20} = -23°$ (Wasser, c = 1,3); + 10,5° (Methanol, c = 0,9); + 23° (Chloroform, c = 1,2); $n_D^{20} = 1{,}4665$.

1 g Trimethylfructose wurden in 50 ccm 20proz. Essigsäure gelöst und mit 2 g frisch destilliertem Phenylhydrazin 1 Std. auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Abkühlung wurde von dem ausgeschiedenen dunkelroten Öl abgegossen, dieses mehrfach mit Wasser gewaschen, in wenig Alkohol gelöst und bis zur bleibenden Trübung mit Wasser versetzt, das ausgeschiedene Öl erneut mit Alkohol-Wasser ausgefällt. Nach zwei Tagen hatten sich bei 0° dunkelgelbe Kristalle abgeschieden. Sie wurden abgetrennt, mit verd. Alkohol gewaschen und bei 40° i. V. getrocknet. Schmp. 120 bis 130°; OCH_3 : 10,0% (Monomethyl-fructosazon, Ber. 8,3%). Aus den eingeengten Mutterlaugen wurde ein weiteres Osazon erhalten, das nach Trocknung 23,5 % OCH_3 ergab (Ber. Trimethylfructosazon 23,3%).

Aus dem Dimethyl-dibenzoyl-methylfructosid wurde eine *Dimethylfructose* mit den folgenden Eigenschaften erhalten:

$[\alpha]_D^{20} = +15°$ (Wasser, c = 0,06); + 10,2° (Methanol, c = 0,08); + 19,5° (Chloroform, c = 0,08); $n_D^{20} = 1{,}4830$.

— —

Über die Konstitution des Viscotoxins

Von *Karl Winterfeld* und *Melanie Rink*

(Aus dem Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn)

[Eingelaufen am 14. Oktober 1948]

Dem mit Viscotoxin bezeichneten Inhaltsstoff der Mistel wurde auf Grund der Elementaranalysen die Summenformel $C_{31}H_{68}O_{18}N_{10}S$ zuerkannt.

Damit steht in Übereinstimmung das Molekulargewicht, das im Mittel zu 925 gefunden wurde. Der Aschengehalt von 0,7 %, den auch sorgfältig gereinigtes Viscotoxin immer noch aufweist, läßt voraussehen, daß bei der Aufstellung der Konstitutionsformel sich noch eine geringe Verschiebung der Kohlenstoff- und Sauerstoffwerte ergeben wird.

Unsere Untersuchungen[1]) ergaben, daß Viscotoxin außer einer peptidartig aufgebauten α-Aminosäurekette noch ein wahrscheinlich *hydriertes Naphthalin* und als weiteren Baustein *Glucuronsäure* aufweist. Den Beweis für den Naphthalinring erbrachte die Selendehydrierung, die einen Kohlenwasserstoff lieferte, der bei 264°, bei 12 mm Hg bei 141° siedete. Der Siedepunkt stimmt mit dem des von Freund und Mai[2]) aus Artemisin durch Zinkstaubdestillation erhaltenen Dimethylnaphthalins überein. Das Pikrat besitzt den gleichen Schmelzpunkt wie das aus Artemisin erhaltene Dimethylnaphthalinpikrat und bildet wie dieses orangefarbene Nadeln. Ein Dimethylnaphthalin von gleichem Sdp., von gleichem Schmp. und Aussehen des Pikrates hatten schon früher Emmert und Reingruber[3]) aus Teer gewonnen.

Als weiteres Produkt der Selendehydrierung isolierten wir eine Base, die zwischen 110—115° destillierte und die wir als Pyridin identifizierten. Darüber hinaus konnten wir noch ein Phenolderivat nachweisen. Der Ätherauszug, dem alle basischen Anteile entzogen waren, zeigte eine deutlich violette Fluoreszenz, die sich beim Stehen an der Luft erheblich vertiefte und auf einen α-Naphtholabkömmling (wahrscheinlich ein Dimethyl-α-naphthol) hinweist.

Bei den Bemühungen, die verschiedenen Spalt- und Dehydrierungsprodukte zu einer Konstitutionsformel zusammenzufügen, bereitete vor allem die Unterbringung des Pyridins Schwierigkeiten. Wir kamen zur Deutung auf folgendem Wege:

Wir spalteten aus dem Viscotoxin Glucuronsäure ab und versetzten das Hydrolysat mit Phosphorwolframsäure. Die Phosphorwolframsäure-Fällung zerlegten wir und überließen den scharf getrockneten Rückstand mehrere Tage der Einwirkung einer benzolischen Diazomethanlösung und gleich anschließend der von Essigsäureanhydrid. Es verblieb ein zäher Sirup, der im Gegensatz zu Viscotoxin ätherlöslich war. Die mit der Ätherlösung durchgeführte chromatographische Adsorption ergab, daß eine Spaltung eingetreten war. Ein stickstoffreier Anteil passierte die Aluminiumoxydsäule glatt, während ein stickstoffhaltiger darin haften blieb. Ersterer bildet nach längerem Stehen über P_2O_5 eine glasig erstarrte, durchsichtige Masse, die bei 141° und 0,6 mm Hg unzersetzt destilliert. Ihr Molekulargewicht beträgt kryoskopisch bestimmt im Mittel 336. Die Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth[4]) (25,82 % Acetyl) entspricht zwei alkoholischen Hydroxylgruppen, von denen wahrscheinlich die eine esterartig mit der Glucuronsäure, die andere mit dem Peptidanteil verknüpft sein dürfte. Die Bestimmung der Methoxylzahl nach Pregl ergab 8,18 % OCH_3. Da freie Carboxylgruppen nicht nachweisbar sind, muß auf eine phenolische bzw. enolische Hy-

[1]) K. Winterfeld und L. H. Bijl, A **561** (1948).
[2]) B. **34**, 3719 (1901).
[3]) A. **211**, 368 (1882).
[4]) B. **66**, 1274 (1933).

droxylgruppe geschlossen werden. Für letztere spricht der ungesättigte Charakter des stickstoffreien Spaltproduktes, das in Aceton gelöst Kaliumpermanganat rasch entfärbt.

Eine mit Kaliumpermanganat in siedendem Aceton durchgeführte Oxydation lieferte unter Öffnung der Doppelbindung ein Keton, das in 50proz. Essigsäure mit p-Nitrophenylhydrazin ein gelbrotes Nitrophenylhydrazon vom Schmp. 207° ergab.

Beim Erhitzen des stickstoffreien Anteils mit 33proz. Salpetersäure trat ein schneller Abbau unter reichlicher Entwicklung von Stickoxyden ein. Aus den Oxydationsprodukten isolierten wir zwei Säuren, die sich durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Calciumsalze unterschieden. Aus dem schwerer löslichen Salz gewannen wir *Bernsteinsäure*. Infolge zu geringer Menge gelang es nicht, die dem leichter löslichen Calciumsalz zugehörige Säure zu identifizieren.

Die Bernsteinsäure weist auf eine $-CH_2-CH_2$-Gruppierung in dem Naphthalinring hin. Der glatte und rasche Abbau des methylierten und acetylierten Spaltproduktes erklärt sich aus der Anwesenheit einer Doppelbindung und der Entstehung eines ringförmigen Ketons bei der Oxydation. Ein Laktonring muß ebenfalls vorliegen. Dies folgern wir aus der leichten Löslichkeit des Viscotoxins in wäßrigen Alkalien, wobei dieses analog dem Santonin seine Wirksamkeit einbüßt, beim Ansäuern aber wieder zurückgewinnt.

Die Haftstelle der an dem Laktonring beteiligten Säure ergibt sich aus dem Schmp. und den Eigenschaften des erhaltenen Dimethylnaphthalinpikrates, das nach den Literaturangaben einem 1,3-Dimethylnaphthalin entspricht. Die große Beständigkeit veranlaßt uns, einen γ-Laktonring anzunehmen.

Im Gegensatz zum stickstoffreien Spaltprodukt bleibt ein stickstoffhaltiger Anteil quantitativ deutlich abgegrenzt in der Al_2O_3-Zone haften, läßt sich aber leicht durch Methanol bzw. Wasser eluieren. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels und nach scharfem Trocknen bleibt ein gelbbraunes Pulver zurück, dessen Molekulargewicht wir kryoskopisch annähernd zu 510 ermittelten. In Anbetracht dessen, daß der stickstoffhaltige Anteil sehr hygroskopisch ist, dürfte das Molekulargewicht zu niedrig ausgefallen sein. Die angestellten Proteinreaktionen (Biuretreaktion, Xanthoproteinreaktion), verliefen positiv und bewiesen das Vorliegen eines Proteins. Von den darin enthaltenen Aminosäuren war eine schon früher (l. c.) durch den positiven Ausfall der Schwefelbleireaktion als Cystein erkannt worden, dagegen lagen bezüglich der anderen keinerlei Anhaltspunkte vor.

Auffallend war der hohe Stickstoffgehalt des Viscotoxins ($C_{34}H_{68}O_{18}N_{10}S$).

Da die gefundenen Spaltstücke mit Ausnahme des bei der Selendehydrierung gewonnenen Pyridins stickstoffrei sind, ist der hohe N-Gehalt dem Proteinanteil zuzuschreiben. Es müssen also stickstoff-

reiche Aminosäuren am Aufbau der Peptidkette beteiligt sein. Es war naheliegend, an das stickstoffreiche *Arginin* zu denken. Diese Annahme war richtig, denn es gelang, Arginin durch charakteristische Farbreaktionen nachzuweisen, und zwar mit Hilfe

1. der Harden-Norrisschen Reaktion[5]), die darauf beruht, daß eine alkalische Argininlösung auf Zusatz von einem Tropfen einer 1proz. Diacetyllösung intensiv rotviolett gefärbt wird,
2. der von Sakaguchi[6]) angegebenen Reaktion, nach der in Proteinen enthaltenes Arginin sich in alkalischer Lösung bei der Einwirkung von Natriumhypochlorit und α-Naphthol durch eine Rotfärbung zu erkennen gibt.

Die Reaktion von Sakaguchi benutzten wir zur colorimetrischen Bestimmung des Arginins, indem wir die Farbintensität des Spaltstückes mit der gleichen Menge einer Mischung aus zwei Mol Arginin, einem Mol Cystein und einem Mol Serin und ferner einer solchen aus einem Mol Arginin, einem Mol Cystein und zwei Mol Serin verglichen. Das Ergebnis sprach für zwei Mol Arginin.

Als vierte Aminosäure kommt *Serin* in Betracht, da die wäßrige Lösung des stickstoffhaltigen Spaltstückes sich auf Zusatz von Eisenchloridlösung deutlich rot färbt.

Wie die Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth (l. c.) ergab, hat bei der Behandlung mit Essigsäureanhydrid auch in der Peptidkette Acetylierung stattgefunden unter gleichzeitiger Spaltung des Arginins in Ornithin und Harnstoff. Wie die gefundene Acetylzahl (29,53%) zu erkennen gibt, sind außer der primären Alkoholgruppe des Serins auch die freien NH_2-Gruppen der Aminosäuren acetyliert worden. Für ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid aus Cystein, Serin und zwei Molekeln Ornithin berechnen sich 28,47% Acetyl.

Der Nachweis des Arginins gibt die Erklärung für die Auffindung des Pyridins bei der Selendehydrierung. Arginin spaltet sich bei der Selendehydrierung in Harnstoff und Ornithin, wobei letzteres Ringschluß zum Aminopiperidon erfährt, das unter NH_3- und Wasserabspaltung in Pyridin übergeht unter gleichzeitiger Zersetzung des Harnstoffs in NH_3 und CO_2, die bei Gegenwart von Wasser sich zu Ammoncarbonat vereinigen, das sich im Kühlrohr der Selendehydrierungsapparatur festsetzt. Eine unter den gleichen Bedingungen durchgeführte Selendehydrierung von l-Arginin führte zu reichlicher Bildung von Pyridin, wobei gleichfalls im Kühlrohr der Dehydrierungsapparatur ein kristalliner Anflug von Ammoncarbonat festzustellen war.

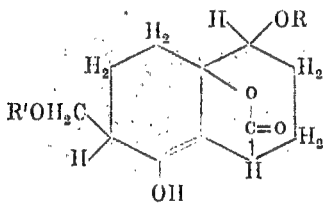
Der anorganische Rückstand des Rohviscotoxins betrug 11—12% und der des reinen Viscotoxins 0,7—0,8%. Dieser besteht aus Phosphorsäure-, aus Kalium- und wenig Magnesium-Ionen. Die Phosphorsäure

[5]) Journ. of Physiology **42**, 332.
[6]) J. Biochem. Tokyo **5**, 25, 134, 140.

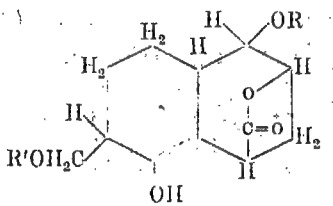
ist allem Anschein nach teils esterartig mit der primären Alkoholgruppe des Serins verknüpft, teils dürfte sie entsprechend den Befunden von Meyerhof und Lohmann[7]), ferner von M. D. Needham, J. Needham, Baldwin und Yudkin[8]) als Argininphosphorsäure vorliegen.

Diese Art der Phosphorsäurebindung macht sowohl den hohen anorganischen Rückstand des Rohviscotoxins verständlich als auch die unvollkommene Abspaltung bei den zur Reindarstellung unternommenen Dialysierversuchen.

Auf Grund dieser Ergebnisse kommen wir zur Aufstellung der Strukturformeln I oder II für das Viscotoxin.



I



II

R = Peptidkette bestehend aus einem Cystein-, einem Serin- und zwei Arginin-Resten.
R' = Glucuronsäurerest.

Die Haftstelle der primären Alkoholgruppe am Ring leiten wir aus dem bei der Selendehydrierung entstandenen 1,3-Dimethylnaphthalin ab. Beide Formeln erklären die Entstehung eines Ringketons bei der unter schonenden Bedingungen durchgeführten Oxydation mit Kaliumpermanganat unter gleichzeitiger Bildung einer Oxysäure ($C_{16}H_{22}O_{11}$). Für die oben angegebenen Strukturformeln berechnet sich die Summenformel $C_{36}H_{58}O_{16}N_{10}S$ und ein Molekulargewicht von 919.

Die Stellung der CHOH-Gruppe im Ring steht nicht fest; sie wäre auch an anderer Stelle denkbar.

In einer vor einiger Zeit erschienenen Arbeit berichtet Fr. E. Koch[9]) über eine nekroseerzeugende Wirkung von Mistelextrakten bei intrakutaner Injektion. Nach den Befunden von Koch ist diese Wirkung nicht auf den herztoxischen Inhaltsstoff der Mistel zurückzuführen, „da es gelingt, einen der beiden Stoffe fast völlig zu entfernen bei Erhaltung des anderen."

Wir konnten nun den Nachweis erbringen, daß diese Annahme irrig ist, denn Viscotoxin war zwar auf Grund der bisherigen Untersuchungen nur als herztoxischer Stoff bekannt (l. c.), ruft aber, wie wir nunmehr

[7]) Bio. Z. **196**, 22 (1928).
[8]) Proc. Roy. Soc. London; B. **110**, 260 (1932).
[9]) Ztschr. f. exp. Med. **103**, 744 (1938).

fanden, bei intrakutaner Injektion in die enthaarte Rückenhaut von weißen Ratten deutlich wahrnehmbare Hautnekrosen hervor, und zwar schon bei der Injektion von 0,1 ccm einer Viscotoxinlösung 1 : 40000.

Der Verlauf der Nekrosenbildung ist folgender: Zuerst entsteht ein dunkler Fleck, nach 1—2 Stunden verfärbt sich dieser gelblich durch Abheben der Haut infolge flacher Blasenbildung, die Blase ist von einem blauroten, mit Blutungen durchsetzten schmalen Rand umgeben. Dieser Zustand hält etwa 4—5 Tage an, dann bricht die Blase auf, so daß eine flache, trockene, braunrote, scharfrandige (wie gestanzte) Hautnekrose sichtbar wird. Um Säurenekrosen auszuschalten (das p_H des Viscotoxins in wäßriger Lösung beträgt 5,2), wurde der Wirkstoff in phosphatgepufferter Lösung ($p_H = 6{,}7$) injiziert.

Für die Ausführung der Versuche sind wir Herrn Dozent Dr. H. Fr. Zipf vom Pharmakologischen Institut der Universität Bonn zu Dank verpflichtet.

Versuchsteil

5 g Viscotoxin wurden in Wasser gelöst, mit 0,5proz. Salzsäure versetzt und zwei Stunden im Wasserbad erhitzt. Das Hydrolysat reduzierte deutlich Fehlingsche Lösung. Auf Zugabe von Phosphorwolframsäure im Überschuß entstand eine starke Fällung, von der abfiltriert wurde. Durch Zugabe von Barytlauge wurde aus dem Filtrat die Glucuronsäure als Bariumsalz abgeschieden, in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelsäure bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und das Filtrat i. V. eingeengt. Der sirupöse Rückstand gab die für Glucuronsäure charakteristische Orcinreaktion nach Naumann[10]).

Aufarbeitung der Phosphorwolframsäurefällung

Diese erfolgte einmal in der Weise, daß wir den Niederschlag mit überschüssiger Barytlauge zur Umsetzung brachten und den Überschuß an Bariumionen durch Einleiten von CO_2 beseitigten, zum anderen, daß wir den Phosphorwolframsäureniederschlag nach dem von F. Lynen und U. Wieland[11]) angegebenen Verfahren aufarbeiteten. Der in beiden Fällen nach vorsichtigem Verdampfen erhaltene braune, zähe Sirup wurde im Vakuumexsikkator scharf getrocknet und erstarrte alsdann zu einer festen Masse. Diese wurde mit abs. Alkohol aufgenommen, mit einer benzolischen Diazomethanlösung im Überschuß versetzt und vier Tage im Eisschrank der Diazomethaneinwirkung überlassen. Schon beim Zugeben der Diazomethanlösung trat deutliche Stickstoffentwicklung ein. Am Boden des Gefäßes hatte sich ein weißer Niederschlag ausgeschieden, der Kaliumionen enthielt. Vom Niederschlag wurde abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert, der zähe sirupöse Rückstand i. V. zur Trockne gebracht und anschließend 48 Stunden mit Essigsäureanhydrid auf dem Wasserbad erwärmt. Das überschüssige Essigsäureanhydrid wurde i. V. abgedunstet, das Reaktionsprodukt mit Äther aufgenommen und filtriert.

Die Ätherlösung hinterließ ein langsam erstarrendes, in Wasser nicht lösliches Öl, das in Äther gelöst der Adsorption an Al_2O_3 unterworfen wurde. Nach dem Passieren der 30 cm hohen und 2 cm breiten Al_2O_3-Säule blieb in der Ätherphase ein stickstoffreier Anteil, der nach dem Abdunsten des Lösungsmittels im Exsikkator zu einer glasigen, spröden Masse erstarrte. In der Al_2O_3-Säule blieb eine stickstoffhaltige Substanz, die sowohl mit Methanol als auch mit Wasser leicht ablösbar war.

a) Das stickstoffreie Spaltprodukt läßt sich im Hochvakuum bei 141° und 0.6 mm Hg ohne Zersetzung destillieren und erstarrt im Exsikkator zu einer glasigen, durchsichtigen Masse.

Molgew.: 0.0991 g Sbst. in 25 g Benzol. $\Delta = 0{,}06°$.
$C_{17}H_{22}O_7$ Ber.: M. 338,5 Gef.: M 337.

[10]) Biolog. Ztschr. **1**, 383 (1906).
[11]) A. **533**, 93 (1937).

Acetylzahl nach Kuhn und Roth. 0,022 g Substanz wurden in 3 ccm 50proz. Schwefelsäure eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht, die abgespaltene Essigsäure im Wasserstoffstrom abdestilliert und mit n/30-Natronlauge titriert. Zur Neutralisation wurden 3,979 ccm benötigt, entsprechend einem Gehalt von 25,87% $COCH_3$.

$C_{17}H_{22}O_7$ Ber. $COCH_3$ 25,44.

Methoxylzahl (Mikro-Zeisel).

3,91 mg Sbst. 2,44 mg AgJ
$C_{17}H_{22}O_7$ Ber. OCH_3 9,17 Gef. OCH_3 8,18.

Oxydation mit Kaliumpermanganat

2 g des acetylierten und methylierten Spaltproduktes wurden in Aceton gelöst und zu der am Rückflußkühler erwärmten Lösung langsam eine 2proz. Kaliumpermanganatlösung getropft, wobei sich die Lösung nach kurzer Zeit entfärbte. Nachdem keine alsbaldige Entfärbung mehr eintrat, wurde die Operation unterbrochen. Vom abgeschiedenen Braunstein wurde abfiltriert, das Lösungsmittel abgedunstet und der Rückstand mit Äther extrahiert. Nach dem Verdunsten des Äthers blieb ein gelbes Öl zurück, das positive Ketonreaktionen gab.

0,5 g des Öles in 50proz. Essigsäure mit 0,5 g Nitrophenylhydrazin am Rückflußkühler gekocht, schieden beim Erkalten ein Nitrophenylhydrazon in gelbroten Flocken aus. Aus heißem Wasser umgelöst besaß dieses den Schmp. 207°.

$C_{22}H_{27}O_{12}N_3$ Ber. C 50,26 H 5,18
Gef. „ 50,56 „ 5,22.

Oxydativer Abbau des stickstoffreien Spaltproduktes

2 g des Spaltproduktes wurden mit 10 ccm Salpetersäure (1 + 1) eine Stunde am Rückflußkühler auf dem Baboblech erhitzt, wobei reichliche Stickoxyd-Entwicklung eintrat. Nach einstündiger Behandlung war die Einwirkung beendet. Das Reaktionsprodukt wurde auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Es hinterblieb ein weißgelber Rückstand, der mit Wasser aufgenommen und mit Aktivkohle geschüttelt wurde. Aus dem eingeengten Filtrat kristallisierten beim Stehen weiße Nädelchen, die zwei verschiedene Kristallformen aufwiesen. Zur Trennung wurde der kristalline Anteil mit verd. Alkohol in Lösung gebracht und in das Ammoniumsalz übergeführt. Auf Zugabe von Calciumchlorid schied sich aus der wäßrigen Lösung des Ammonsalzes ein Calciumsalz aus, das größtenteils schwer löslich war, während ein geringerer Teil sich als leicht löslich erwies. Die Zerlegung des schwer löslichen Calciumsalzes mit Schwefelsäure führte zu einer mit Äther ausschüttelbaren Säure, die beim Abdunsten in rein weißen Kristallen vom Schmp. 185° zurückblieb. Der Mischschmelzpunkt mit *Bernsteinsäure* zeigte keine Depression. Das aus dieser Säure erhaltene Ammoniumsalz färbte beim Erhitzen einen mit Salzsäure getränkten Fichtenspan intensiv rot. Dieses Verhalten und die Ergebnisse der Elementaranalyse beweisen das Vorliegen von Bernsteinsäure.

$C_4H_6O_4$ Ber. C 40,00 H 5,34
Gef. „ 40,62 „ 5,08.

Die Identifizierung der zweiten Säure, deren Calciumsalz leicht löslich war, gelang nicht. Die Säure war ebenfalls mit Äther ausschüttelbar und blieb als weißlicher Rückstand beim Abdunsten zurück. Schmp. 174°.

b) Das stickstoffhaltige Spaltprodukt des Viscotoxins konnte mit Hilfe von Methanol bzw. Wasser leicht aus der Al_2O_3-Säule gelöst werden. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels und Trocknen im Exsikkator blieb ein gelbbraunes, sehr hygroskopisches Pulver zurück.

Molgew.: 0,717 g Subst. in 25 g Benzol $\Delta = 0{,}035°$ Gef. M. 510.

Für ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid der im allgemeinen Teil angegebenen Zusammensetzung berechnet sich ein Molgewicht von 604.

Bestimmung der Acetylzahl nach Kuhn und Roth.

0,0246 g Sbst. wurden mit 3 ccm 50proz. Schwefelsäure eine halbe Stunde am Rückflußkühler gekocht, die Essigsäure im Wasserstoffstrom abdestilliert und mit n/30-Natronlauge titriert. Es wurden 5,54 ccm bis zur Neutralisation verbraucht.

$C_{24}H_{40}O_{10}N_6S$ Ber. $COCH_3$ 28,47 Gef. 29,53.

Reineckat. 0,5 g wurden in wenig Alkohol gelöst, schwach mit Salzsäure angesäuert und mit einer konz. frisch bereiteten Reineckesalzlösung gefällt. Es schieden sich dunkelrote Flocken aus, die beim Verreiben fest wurden. I. V. getrocknet besaß das Reineckat den Zersetzungspunkt 169—170°.

$C_{28}H_{48}O_{20}N_{12}S_5Cr$	Gef. C	38,61	H	5,44	Cr	6,21	N 19,42
	Ber. ,,	40,78	,,	5,81	,,	6,31	,, 20,10.

Die Ergebnisse der Elementaranalyse zeigen, an, daß ein vierfach acetyliertes Tetrapeptid vorliegt, aus dem durch die Essigsäureeinwirkung die beiden Guanidinoreste eliminiert sind unter Übergang des Arginins in Ornithin.

Abbauversuche an quartären Salzen des Vomicins und Desoxyvomicins

Über Strychnos-Alkaloide XXXIII

Von *Rolf Huisgen*, *Heinrich Wieland* und *Heinz Eder*

(Aus dem Chem. Universitätslaboratorium München, Zweigstelle Weilheim)

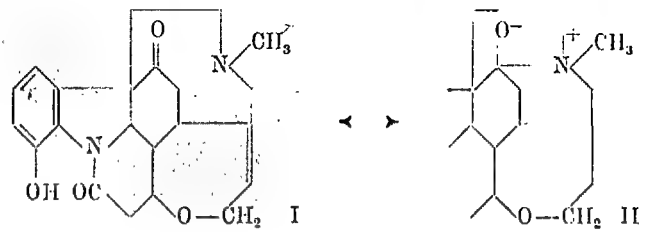
[Eingelaufen am 26. Oktober 1948]

Die Frage nach der Bindung des vierten Sauerstoffatoms in der Vomicinmolekel hat eine indirekte Lösung erfahren. A. S. Bailey und R. Robinson[1]) konnten das N-Methyl-sec-pseudostrychnin sowie das analoge Brucinderivat mit Chromsäure zu einer Säure $C_{17}H_{22}O_5N_2$ abbauen, die mit dem Oxydationsprodukt des Vomicins[2]) identisch ist. Da dieser Abbau sich auf den aromatischen Kern des Alkaloids beschränkt, läßt der Befund an der strukturellen Übereinstimmung des Vomicins mit dem genannten Strychninderivat keinen Zweifel. Vomicin ist somit ein *Bz-Oxy-N-methyl-sec-pseudostrychnin* (I), womit auch der biogenetische Zusammenhang mit dem Stammalkaloid vorgezeichnet erscheint.

Die Reaktionen am basischen Stickstoff des Vomicins sind von einer ausgeprägten, beispiellosen Eigenart, die auch in den evtl. verwandt erscheinenden Protopinbasen keine weitreichende Analogie findet. Die beträchtlichen Strukturänderungen des Ringgerüstes, deren innere

[1]) Nature **161**, 433 (1948).
[2]) H. Wieland und G. Oertel, A. **469**, 193 (1929).

Zwangsläufigkeit zuweilen nicht ganz einleuchtet, nehmen den im folgenden beschriebenen Abbauversuchen am quartären Stickstoff des Vomicins und Desoxyvomicins weitgehend die Beweiskraft für das neue Formelbild I. Charakteristisch ist, daß I weniger aus den Reaktionen



des Vomicins als aus einer Spekulation über seine biogenetische Beziehung zum Strychnin erschlossen und von den englischen Autoren auf indirektem Wege bewiesen wurde.

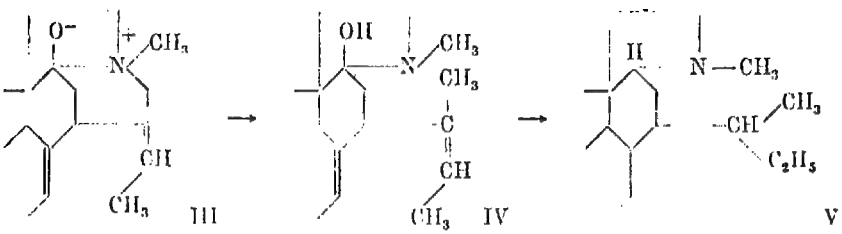
Tertiären Aminen pflegt man die Neigung zur Reaktion mit Aldehyden und Ketonen abzusprechen. In der Vomicinreihe wird die Wechselwirkung zwischen tertiärem Stickstoff und Carbonylgruppe durch deren räumliche Nachbarschaft so weit verstärkt, daß die zwitterionische Struktur II, eine Keton-Ammoniak-Gruppierung mit quartärem Stickstoff, zu einer für die Reaktivität maßgebenden mesomeren Grenzformel wird. Die Beteiligung einer solchen Struktur am Grundzustand dürfte einerseits für das Ausbleiben der normalen Carbonylreaktionen, andererseits für die auch in der Reihe des N-Methyl-sec-pseudostrychnins zu beobachtende Basizitätsverminderung[3]) des Stickstoffs verantwortlich sein.

Einen Schlüssel zum Verständnis der Reaktionen am basischen Stickstoff des Vomicins bietet das unterschiedliche Verhalten von α-Aminocarbinolen mit tertiärem und quartärem Stickstoff. Die so typische leichte Reduzierbarkeit des Hydroxyls von α-Amino-carbinolen bei der Behandlung mit nascierendem, katalytisch erregtem oder chemisch gebundenem (Formaldehyd, Ameisensäure) Wasserstoff verschwindet, sobald der Stickstoff quartär wird. Die Methylierung des Ammonchlorids mit Formaldehyd erreicht bekanntlich im Trimethylammonium-chlorid ihr Endprodukt.

Bei der katalytischen Hydrierung tritt die Bereitschaft der Vomicinbasen, in der Betainformel II zu reagieren, in Erscheinung. Für die vier Mol Wasserstoff benötigende katalytische Hydrierung des farblosen Desoxyvomicins ergibt sich jetzt folgende Deutung. Die tertiäre Base unterliegt in der Ammoniumstruktur III einem Emde-Abbau, der wie bei einem echten quartären Salz unter Ringsprengung zu IV führt.

[3]) Keine Addition von Methyljodid bei 42°; Vomicin reagiert nicht mit Jodmethyl bei 100°, addiert Dimethylsulfat in sied. benzolischer Lösung nur langsam.

Die entstehende Ketonammoniak-Gruppierung wird in bekannter Reaktion (Skita, Knoop) reduziert; die Absättigung der Doppelbindun-



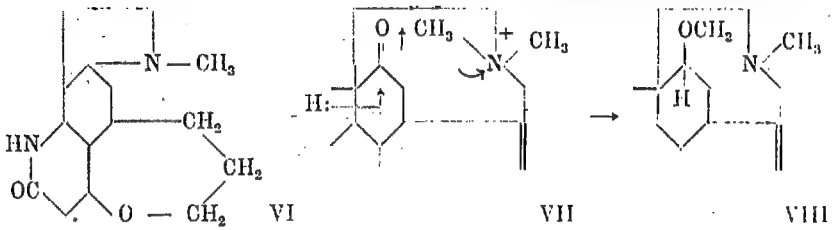
gen führt schließlich zur Base $C_{22}H_{30}O_2N_2$[4]) (V). Die Einwirkung katalytisch erregten Wasserstoffs wird damit von einem Übergang des Pseudostrychnintypus in den der Emde-Abbau-Basen der quartären Strychniniumsalze begleitet. Diese Reaktionsfolge entspricht viel weniger dem *Prinzip der möglichst geringen Strukturänderung* als unsere frühere Interpretation[5]), deren Grundlage, die N-Methylen-oxidobrücke im Vomicin, wir in ihrer Fragwürdigkeit nie verkannt haben. Die frühere Deutung sah übrigens für die Hydro-Base ebenfalls die Konstitution V vor.

Daß im Vomicin selbst die katalytische Hydrierung sich auf die Doppelbindung beschränkt, hat seine Ursache in der geringeren *Basizität* des Vomicins, das in verdünnter Essigsäure in Gegenwart von Natriumacetat unlöslich ist. Basizitätsverminderung bedeutet nicht nur Einbuße an Protonenaffinität, sondern auch verringerte Additionsbereitschaft des Stickstoffs mit seinem freien Elektronenpaar an die Carbonylgruppe gemäß II; Vomicin selbst reagiert daher nach I. Das stärker basische Produkt des oxydativen Abbaus des Vomicins, die Base $C_{16}H_{22}O_3N_2$ verbraucht wie Desoxyvomicin 4 Mol katal. erregten Wasserstoff und liefert die V analoge Base $C_{16}H_{26}O_2N_2$[6]) (VI). Zeigt auch schon das Vomicidin das Phänomen einer für die Dihydrostufe zu hohen Wasserstoffaufnahme, so sind bei dessen Abbaubase $C_{16}H_{24}O_2N_2$ die beiden Produkte der Hydrierung mit und ohne Emdespaltung isolierbar[7]). Auch Isovomicin ist auf katalytischem Weg zur Base $C_{22}H_{30}O_2N_2$ (V) hydrierbar[8]), im Einklang mit seiner gegenüber Vomicin stärkeren Basizität. Diese Interpretation der Hydrierung der tertiären Basen wurde vorangestellt, weil sie Licht auf die Bedeutung der zwitterionischen Grenzformel wirft und dem Verständnis der Abbaureaktionen der quartären Salze förderlich ist.

[4]) H. Wieland und G. Varvoglis, A. **507**, 82 (1933).
[5]) H. Wieland, R. Huisgen und R. Bubenik, A. **559**, 191 (1948); dort Formel XII.
[6]) H. Wieland, F. Hölscher und F. Cortese, A. **491**, 133 (1931).
[7]) H. Wieland und L. Horner, A. **545**, 116 (1940).
[8]) H. Wieland und M. Thiel, A. **550**, 294 (1942).

Der Emde-Abbau des Methyl-vomicinium-Salzes

Da das quartäre Methyl-vomicinium-Salz 2 Methylimidgruppen besitzt, erfordert die Bildung des Methylvomicins (VIII), das über eine Methoxyl- und eine N-Methylgruppe verfügt[9]), die Wanderung eines Methylrestes vom Stickstoff an den Sauerstoff. Die mit der Addition eines Wasserstoffanions[10]) gleichbedeutende Anlagerung von zwei Elektronen und einem Proton bei der Reduktion mit Natriumamalgam wird



VI VII VIII

anschaulich durch die in VII angegebenen Elektronenverschiebungen. Die Methylgruppe „wandert" demnach nicht, sondern wechselt nur ihre Bindungsverhältnisse. Die Loslösung vom Stickstoff unter Zurücklassung der Bindungselektronen erfolgt gleichzeitig mit der Anheftung an den Sauerstoff der aufgerichteten Carbonylgruppe. Methyl-dihydro-vomicinium-Salz ist dem Emde-Abbau nicht zugänglich; maßgebend für die Reduktion zur tertiären Base ist somit die Auflockerung der N-Methyl-Bindung durch die Kohlenstoffdoppelbindung. Eine solche Beeinflussung der Bindungsverhältnisse durch einen ungesättigten Substituenten über dessen eigene Bindung an den Stickstoff hinaus ist nicht neu; quartäre Tetrahydro-chinoliniumsalze als Beispiel[11]) stoßen bei der Amalgamreduktion bevorzugt eine N-Methylgruppe ab.

Eine Analogie für die Methylwanderung vom Stickstoff an den Sauerstoff unter vergleichbar milden Bedingungen dürfte nicht leicht zu finden sein. Voraussetzung ist jedenfalls die optimale sterische Anordnung der benachbarten Gruppen. Ein verwandter Reaktionstyp findet sich in der Methylierung von Phenolen mit Phenyl-trimethyl-ammoniumhydroxyd gemäß

$$Ar-\overset{(-)}{O} + (CH_3)_3\overset{(+)}{N} - C_6H_5 \rightarrow Ar\text{-}O\text{-}CH_3 + (CH_3)_2N - C_6H_5$$

nach W. Rodionow[12]); eine Reaktion, die Morphin in Codein überzuführen gestattet. Auch für den Umkehrprozeß, die Wanderung des

[9]) H. Wieland und O. Müller, A. **545**, 59 (1940).

[10]) Für die Bouveault-Blancsche Reduktion von Estern und Ketonen zu Alkoholen mit Natrium nahm Darzens intermediär entstehendes Natriumhydrid als Reduktionsmittel an; die Reduzierbarkeit der Carbonylverbindungen mit NaH spricht für die Richtigkeit dieser Annahme. Siehe Chem. Eng. News **25**, 2524 (1947).

[11]) H. Emde, A. **391**, 88 (1912); J. v. Braun, A. **382**, 3 (1911).

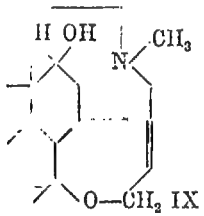
[12]) Bl. [4] **39**, 305 (1926).

Methyls vom Sauerstoff an den Stickstoff bietet die Pseudostrychnin-Reihe ein Beispiel. Nach H. Leuchs[13]) führt die Einwirkung von Methyljodid auf Pseudostrychnin-methyläther zum methoxylfreien N-Dimethyl-*sec*-pseudostrychninium-jodid.

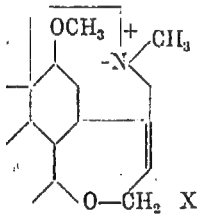
Den beiden Isomeren[14]) des Methylvomicins kommt vermutlich das gleiche Ringgerüst zu; beide sind nämlich einem weiteren Emde-Abbau zugänglich. Verschiebung der Doppelbindung, evtl. in die Neo-Stellung, könnte die Isomerie bedingen.

Das am Sauerstoff entmethylierte Methylvomicin (IX) erscheint nach dieser Reaktionsdeutung als der dem Vomicin als Keton zugehörige sekundäre Alkohol. Allen Versuchen zur wechselseitigen Überführung mit Hilfe der Oppenauer-Oxydation und der Reduktion nach Meerwein-Ponndorf war der gewünschte Erfolg leider nicht beschieden.

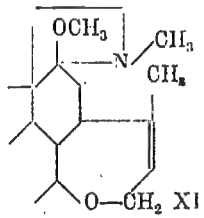
Die katalytische Hydrierung des Methyl-vomicinium-methylsulfats führt nicht, wie früher mitgeteilt[9]), ausschließlich zur quartären Dihydrostufe, sondern liefert einen gewissen Anteil an tertiärem Material, der sich bei Wahl geeigneter Reaktionsbedingungen auf 75% d. Th. steigern läßt. Aus dem Reaktionsgemisch sind zwei isomere Basen $C_{22}H_{28}O_3N_2$ isolierbar, die methoxylfrei sind und nur mehr ein N-Methyl besitzen. Der gleichzeitige Verlust eines Methylkohlenstoffs und eines Sauerstoffatoms führt zwangsläufig wieder zur Annahme einer Methylwanderung, die aber in diesem Fall nicht die Koordinationszahl des Stickstoffs vermindert, sondern zusätzlich zur Emdespaltung erfolgt. Das quartäre



IX



X



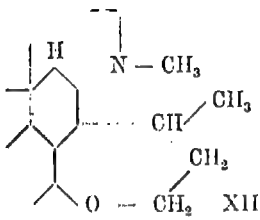
XI

Salz reagiert mit katalytisch erregtem Wasserstoff als Äther der quartären α-Ammonium-carbinol-form (X), der einem normalen Emde-Abbau zu XI unterliegt an der durch die β,γ-ständige Doppelbindung aktivierten Stelle. Der Übergang des N-Dimethyl-Salzes in X erfolgt nicht vor, sondern während der hydrierenden Spaltung. VII und X unterscheiden sich im wesentlichen in der Anordnung der Bindungselektronen; die beiden Strukturen sind aber nicht mesomer, da der Übergang einer konfigurativen Umkehr an der Methylgruppe bedarf. Aus dem Amino-carbinol-Äther XI wird im weiteren Verlauf der Hydrierung die Methoxyl-

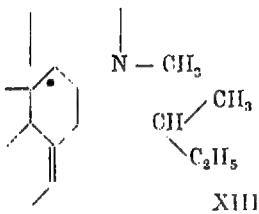
[13]) B. **70**, 2455 (1937); desgl. in der Brucinreihe: H. Leuchs und H. G. Boit, B. **73**, 885 (1940).

[14]) H. Wieland und W. Weißkopf, A. **553**, 1 (1943).

Gruppe reduktiv eliminiert; sie findet sich als *Methanol* zu 85% d. Th. (bezogen auf tertiäres Material) in der Hydrierlösung.



XII



XIII

Der zu den stereoisomeren Basen $C_{22}H_{28}O_3N_2$ (XII) führende Reaktionsverlauf besitzt große Ähnlichkeit mit der oben skizzierten katalytischen Hydrierung des Desoxyvomicins zu V. Durch Überführung von XII in V sollte diese formale Übereinstimmung gesichert werden. Mit Bromwasserstoffsäure gelang die Öffnung des unteren Ätherringes; jedoch widerstand der entbromte Körper XIII der katal. Hydrierung[15]). Für die Lage der Doppelbindung in XIII beweisend ist die gelbe Farbe des Kondensationsproduktes mit Benzaldehyd; die gesättigten Basen mit geöffnetem Ätherring geben farblose Benzalderivate, wie das Tetrahydrodesoxyvomicin sowie die Base $C_{22}H_{30}O_2N_2$ (V) zeigen.
In allen bislang untersuchten Fällen nimmt der Emde-Abbau in der Vomicinreihe in Abhängigkeit vom Reduktionsmittel einen *verschiedenartigen* Verlauf.

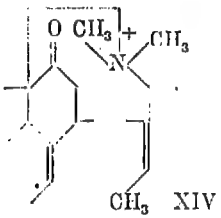
Die quartären Salze des Desoxyvomicins

In der 23. Mitt.[15a]) wurde ein Jodmethylat des farblosen Desoxyvomicins beschrieben, dessen Emde-Abbau mit Natriumamalgam eine N-Dimethylbase $C_{23}H_{30}O_3N_2$ ergab[9]). Diese Base beansprucht Interesse sowohl im Hinblick auf ihre Bildung — Verbrauch von 4 H-Atomen beim Emde-Abbau — als auch wegen ihrer Eignung zur Eliminierung des basischen Stickstoffs. Die Anlagerung von Methyljodid an Desoxyvomicin ist präparativ sehr unbefriedigend und liefert selten mehr als 40 Proz. des krist. quartären Jodids. Die glatte und quantitative Addition von Dimethylsulfat in siedender benzolischer Lösung führt nun wider Erwarten in eine isomere Reihe von Methyl-desoxyvomicinium-Salzen, wie der Vergleich der Bromide, Jodide und Pikrate, vor allem aber der hydrierende Abbau lehrt. Es ergab sich, daß sich die Anlagerung von Dimethylsulfat ohne strukturelle Änderung der Molekel des farblosen

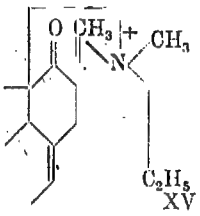
[15]) Selbst ein Pt-Kontakt, der das schwer hydrierbare Dihydrodesoxyvomicin in analoger Reaktion in die Tetrahydro-Verbindung (R. Huisgen und H. Wieland, A. **555**, 10 [1943]) überführte, vermochte XIII nicht zur Wasserstoffaufnahme zu bewegen.

[15a]) H. Wieland und O. Schmauss, A. **545**, 72 (1940).

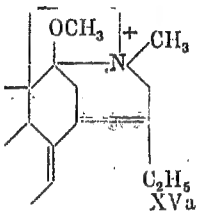
Desoxyvomicins[16]) zu XIV vollzieht, während die von Methyljodid von einer Isomerisierung begleitet ist. Die Vertreter der ersten Salzreihe sind stabil gegen saure Mittel, werden aber durch Erwärmen mit einer katalytischen Menge Jod im organischen Lösungsmittel - bei der direkten Bildung des Jodmethylats aus den Komponenten im Einschlußrohr ist stets Jod vorhanden - in die isomere Salzreihe übergeführt. Da eine bloße konfigurative Änderung von XIV dem verschiedenen Verhalten



XIV



XV



XVa

der quartären Salze gegenüber hydrierenden Agentien nicht Rechnung trägt, kommt nur Doppelbindungsisomerie in Frage, zumal beide Salzreihen zwei Methylimid- und keine Methoxyl-Gruppe besitzen.

Der Emde-Abbau der primären Salzreihe (XIV) verrät die gleichen charakteristischen Beziehungen von quartärem Stickstoff und Carbonylgruppe, wie sie im Vomiciniumsalz vorhanden sind. Beim Abbau der quartären Salze der isomeren Reihe vermißt man diese Wechselwirkung der beiden Gruppen völlig. Man kann darin ein gewichtiges Argument für eine Lage der Doppelbindungen gemäß XV erblicken. Die β,γ-ständige Doppelbindung in XV macht den quartären Stickstoff weiterhin einem Emde-Abbau geneigt, verbietet aber aus sterischen Gründen (Bredtsche Regel) eine Reaktionsweise nach der Ammonium-carbinol-Struktur XV a. Der große Ring in XV ist auch mit Doppelbindung am Brückenkopf spannungsfrei; für diese Gültigkeitsgrenze der Bredtschen Regel wurde kürzlich der experimentelle Nachweis[17]) erbracht.

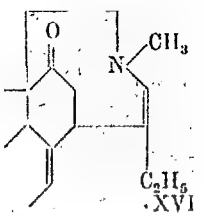
Aus dem tertiären Anteil, der sich neben dem isomeren quartären Jodid im Reaktionsprodukt von Desoxyvomicin und Methyljodid findet, gelang die Isolierung des *Neodesoxyvomicins* in bescheidener Menge, identisch mit der früher aus Vomicin mit Kaliumjodid und Phosphorsäure erhaltenen Desoxy-Base[18]). Der geringen Basizität dieses dritten Isomeren des Desoxyvomicins, das weder Methyljodid noch Dimethylsulfat zu addieren vermag und im Gegensatz zu den beiden anderen Isomeren in n/10-Essigsäure unlöslich ist, wird die Vinylamin-Gruppierung der Formel XVI am besten gerecht. Damit würde das Neodes-

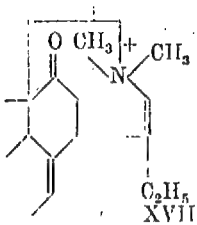
[16]) Die Lage der Doppelbindungen ist streng bewiesen. Siehe R. Huisgen und H. Wieland, A. **555**, 10 (1943).

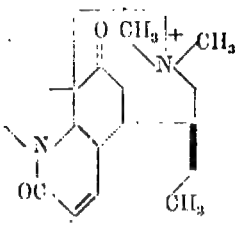
[17]) V. Prelog, L. Ruzicka, P. Barmann und L. Frenkiel, Helv. **31**, 92 (1948).

[18]) H. Wieland und M. Thiel, A. **550**, 287 (1942).

oxyvomicin, was seinerzeit bei der Namengebung keineswegs beabsichtigt war, in strukturelle Beziehung zu den Neo-Basen des Strychnins


XVI


XVII


XVIII

und Brucins treten, in denen jüngst Robinson[19]) und Woodward[20]) eine zum basischen Stickstoff α,β-ständige Doppelbindung nachweisen konnten. Im Gegensatz zu der 4 Mol Wasserstoff beanspruchenden katal. Hydrierung des farblosen Desoxyvomicins bildet das Neo-Isomere lediglich ein Dihydroderivat[18]). Ob dabei die schwer hydrierbare Doppelbindung des Lactamringes oder die Neo-Doppelbindung erhalten bleibt, ist unsicher; auch die letztere fanden die englischen Autoren reaktionsträge[21]). Die fehlende Einbeziehung der Carbonylgruppe in den Reduktionsprozeß stützt nicht nur die Formulierung des Neo-Isomeren gemäß XVI, sondern sichert auch den konstitutionellen Zusammenhang des Neodesoxyvomicins mit dem isomeren quartären Salz des Desoxyvomicins, obwohl ein unmittelbarer Beweis nicht möglich ist[22]). Letzteres Salz wird im folgenden, ohne daß Formel XV widerlegt wäre, als Methyl-neodesoxyvomicinium-Salz (XVII) weiter diskutiert.

Unter besonderen Bedingungen läßt sich auch das gelbe Desoxyvomicin, das man bei der Reaktion von Vomicin mit Jodwasserstoff zunächst erhält, zur Addition von Dimethylsulfat bewegen. Wie bei den freien Basen, so ermöglicht auch in der Reihe der quartären Salze die milde Alkaliwirkung den Übergang des gelben in das farblose Isomere; das quartäre Methylsalz des gelben Desoxyvomicins (XVIII)[23]) gibt bei der Behandlung mit Natriumamalgam vorwiegend die Abbauprodukte des farblosen Isomeren, dessen Salze (XIV) hinfort einfach Methyl-desoxyvomicinium-Salze genannt seien.

Über die unsichere Existenz eines vierten Isomeren unter den quartären Salzen des Desoxyvomicins, das früher aus Methyl-vomicinium-

[19]) R. Robinson und Chakravarti, Nature **160**, 18 (1947).
[20]) R. B. Woodward und W. J. Brehm, Am. **70**, 2107 (1948).
[21]) O. Achmatowicz, G. R. Clemo, W. H. Perkin und R. Robinson, Soc. **1932**, 767.
[22]) Die Bildung des Salzes XVII erfolgt nicht über die Neobase, die ihr Auftreten einer Isomerisierung des farbl. Desoxyvomicins vor der Quartärsalz-Bildung verdankt.
[23]) Bezüglich der Formel des gelben Isomeren vgl. eine demnächst erscheinende Abhandlung.

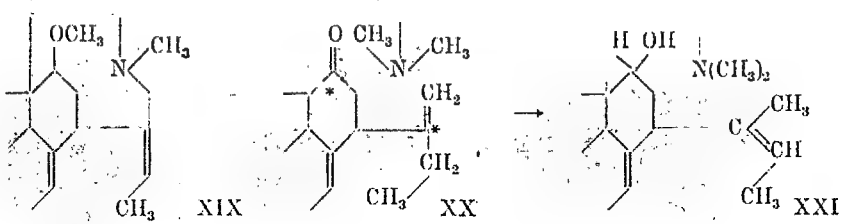
bromid mit Bromwasserstoffsäure und nachfolgender Entbromung erhalten wurde[24]), vergl. den Versuchsteil.

Der Emde-Abbau des Methyl-desoxyvomicinium-Salzes verläuft dem Abbau des Methyl-vomiciniumsalzes anolog, bedingt durch die gleiche Lage der aktivierenden Doppelbindung. Mit Natriumamalgam wird in „anomalem" Abbau eine dem Methylvomicin entsprechende Base $C_{23}H_{28}O_3N_2$ (XIX) mit Methoxyl- und Methylimid-Gruppe erhalten.

Die Einwirkung katalytisch erregten Wasserstoffs ist von einer quantitativen Emde-Spaltung begleitet. Unter Verbrauch von 4 Mol Wasserstoff entstehen die gleichen stereoisomeren Basen $C_{22}H_{30}O_2N_2$ (V), die von der Hydrierung des Desoxyvomicins her bekannt sind. Diese bemerkenswerte Bildung des gleichen Hydrierungsproduktes aus Base und quartärem Methylsalz findet in einer Wanderung der Methylgruppe vom Stickstoff an den Sauerstoff mit nachfolgender, reduktiver Entfernung der Methoxylgruppe ihre Erklärung; auch hier ist in der Hydrierlösung eine äquivalente Menge Methanol nachweisbar. Das Ergebnis eines normalen Emde-Abbaus, eine N-Dimethylbase, ist im Gemisch der Hydrierbasen nicht vorhanden.

Der Emde-Abbau des Methyl-neodesoxyvomicinium-Salzes

Wie schon S. 198 erwähnt, werden bei der Natriumamalgam-Behandlung des Neo-Salzes (XVII), seinerzeit irrtümlich als Abkömmling des farblosen Desoxyvomicins aufgefaßt, 2 Wasserstoffatome über den Bedarf einer einfachen Ringöffnung hinaus aufgenommen. Die Spaltung eines Ringes ergibt sich aus dem Gehalt an zwei analytisch nachweisbaren Methylimid-Gruppen in der schon beschriebenen tertiären Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$[9]). Unter den flüchtigen Spaltstücken bei der Ozonisation dieser Base läßt sich Acetaldehyd fassen, was für eine Verschiebung der Doppelbindung im Zuge des Abbaus spricht. Die Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ verfügt über zwei intakte Doppelbindungen, wie die Überführung in zwei isomere Tetrahydroderivate bei der katalytischen Hydrierung lehrt. Für die erwähnte zusätzliche Wasserstoffaufnahme bei der Amalgam-Behandlung kann daher nur die Carbonylgruppe verantwortlich sein, womit sich Formel XXI als befriedigender Strukturausdruck für die



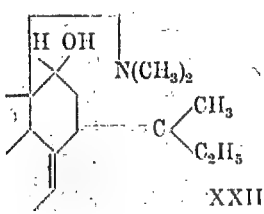
[24]) H. Wieland und R. G. Jennen, A. 545, 99 (1940).

Abbaubase ergibt. Die Darstellung einer krist. Diacetylverbindung mag als Beweis für die Reduktion des Carbonyls gelten[25]).

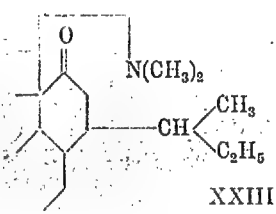
Eine Analogie für die Emde-Spaltung eines Salzes vom Vinyl-ammonium-Typ bietet das Verhalten der Aniliniumsalze, bei denen die aktivierende Doppelbindung in ein aromatisches System einbezogen ist; N-Trimethyl-anilinium-Salze werden sowohl mit Natriumamalgam[26]) als auch mit katalytisch erregtem Wasserstoff[27]) an der Kern-Stickstoff-Bindung aufgespalten.

Verwunderlich erscheint die glatte Reduktion der Carbonylgruppe mit naszierendem Wasserstoff in Anbetracht der völligen Resistenz dieses Strukturelements im Vomicin und Desoxyvomicin. Die Aufhebung der Blockierung der Carbonyl-Reaktionen bringen wir in Zusammenhang mit der *freien Beweglichkeit* der beim Emde-Abbau entstehenden Dimethylamino-äthyl-Seitenkette. Mit dem Verlust der starren Fixierung von Carbonylgruppe und Stickstoff in räumlicher Nachbarschaft verringert sich die Beteiligung der Betainstruktur, die die Maskierung der Carbonyl-Reaktionen verursacht.

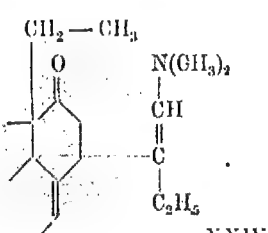
In den Mutterlaugen der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ findet sich eine isomere Base von geringerem Drehwert; ihre Resistenz gegenüber katalytisch erregtem Wasserstoff läßt ein konjugiertes System gemäß XXII vermuten.



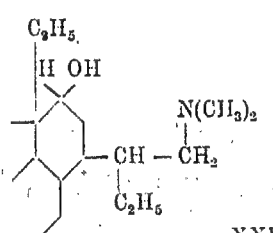
XXII



XXIII



XXIV



XXV

Die katalytische Hydrierung des Neo-Salzes mit Platinoxyd in wäßriger Lösung ergibt fast quantitativ eine Base $C_{23}H_{32}O_3N_2$, in der ebenfalls zwei N-Methylgruppen analytisch erfaßbar sind. Eine dem Abbau mit Natriumamalgam gleichartige Ringöffnung zu XX mit an-

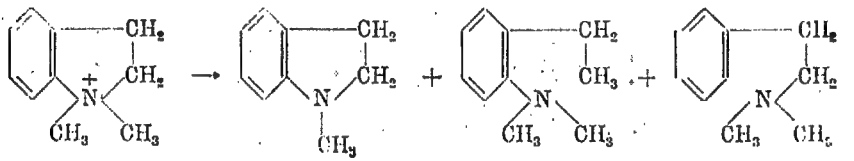
[25]) Das Phenol-hydroxyl trägt die zweite Acetylgruppe.

[26]) R. Willstätter und W. Khan, B. **37**, 1859 (1904); P. Groenewood und R. Robinson, Soc. **1934**, 1692.

[27]) H. Emde und H. Kull, Arch. Pharm. **274**, 176 (1936).

schließender Absättigung der Doppelbindungen sollte mit XXIII eine Base dieser Bruttoformel erreichen. Bei der anschließenden Behandlung mit Natriumamalgam nimmt die Base $C_{23}H_{32}O_3N_2$ zwei weitere Wasserstoffatome auf, die nur der Reduktion der Carbonylgruppe zum Carbinol dienen können. Überraschenderweise ist das Reduktionsprodukt $C_{23}H_{34}O_3N_2$ mit keiner der beiden stereoisomeren Basen gleicher Bruttoformel identisch, die bei der katalytischen Hydrierung der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ (XXI) entstehen.

Für eine neue Raumisomerie käme wohl nur eine Epimerie an den beiden mit * bezeichneten C-Atomen des gemeinsamen Zwischenproduktes XX in Frage. Die Beschreitung konfigurativ verschiedener Wege bei der abwechselnden Reihenfolge der Reduktionsmittel — einmal zuerst naszierender, dann katal. erregter Wasserstoff, beim zweiten Mal die umgekehrte Folge — erscheint so wenig einleuchtend, daß man auch eine Strukturisomerie der Basen $C_{23}H_{34}O_3N_2$ diskutieren muß, was allerdings Verzicht auf das gemeinsame Zwischenprodukt XX der beiden Abbaureihen bedeutet. Formel XXIV gibt eine zweite Möglichkeit der hydrierenden Ringöffnung des Neosalzes wieder, die nach Einwirkung beider Reduktionsmittel zu einer Alkoholbase der Formel XXV führen sollte. Die prinzipielle Möglichkeit einer verschiedenartigen Ringöffnung beim Emde-Abbau ist durch Modellversuche gesichert, wie etwa der Verlauf der Reduktion von N-Dimethyl-dihydro-indolinium-Salz[28]) zeigt:



Daß der Abbau des Neo-Salzes mit Natriumamalgam über XX und nicht über XXIV verläuft, ergibt sich aus der katalytischen Hydrierung des Jodmethylats von XXI, die kein tertiäres Material liefert, sich also ohne Emde-Spaltung vollzieht.

Eliminierung des basischen Stickstoffs. Desaza-desoxy-vomicin

Frühere Versuche, das Dimethylvomicin, die zweite Stufe des Emde-Abbaus von Vomicin, dem Hofmannschen Abbau zu unterwerfen, hatten zur Abspaltung von Trimethylamin geführt, ohne daß die Isolierung des nicht mehr basischen Spaltstücks gelungen wäre[9])[14]).

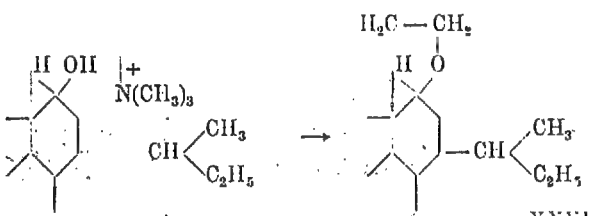
Bei den quartären Salzen der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ (XXI), dem höherschmelzenden Abbauprodukt des Neodesoxyvomicins, ist die Tendenz zur Trimethylamin-Abspaltung wesentlich ausgeprägter als in der Reihe des Dimethylvomicins. Die mit Natronlauge versetzte wäßrige Lösung des Jodmethylats von XXI zeigt schon bei Raumtemperatur den charakteristischen Geruch der flüchtigen Base. Der nichtbasische Molekülrest konnte erst gefaßt werden, als wir uns einer anderen Methode, des thermischen Abbaus des Jodmethylats bedienten. Gegen 270° geht im Hoch-

[28]) J. v. Braun und L. Neumann, B. 49, 1283 (1916).

vakuum neben Trimethylamin-Jodhydrat der Desazakörper über, der aus Alkohol kristallisiert und der erwarteten Formel $C_{21}H_{23}O_3N$ entspricht.

Noch glatter vollzieht sich die thermische Amin-Abspaltung bei den Jodmethylaten der beiden stereoisomeren Tetrahydro-derivate der genannten Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$; die Ausbeuten an kristallisiertem *Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin* überschreiten in beiden Fällen 40 Proz. d. Th.

Die Konstitution der selbst in konz. Salzsäure nicht mehr löslichen Tetrahydro-desaza-Körper ergibt sich aus drei negativen Versuchen, die jeweils das Material unverändert zurückgaben: Dem Versuch der Acetylierung mit Acetanhydrid bei ,100°, der Hydrazonbildung mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin und der katalytischen Hydrierung mit PtO_2 in Alkohol. Das gleichzeitige Verschwinden der zu erwartenden Vinyl-



XXVI

Seitenkette und der alkoholischen Hydroxylgruppe spricht für Formel XXVI. Die Schließung des Tetrahydrofuranringes entspricht völlig dem „Thebenol"-Ringschluß in der Thebainreihe, bekannt durch die Arbeiten von Freund[29]), Wieland[30]) und Schöpf[31]). Die vinylierte Alkoholbase ist nicht hypothetisches Zwischenprodukt. Schließung des Ätherringes und Abstoßung des Trimethylamins dürften sich als bimolekulare Substitution an dem den quartären Stickstoff tragenden Kohlenstoffatom vollziehen, ein Mechanismus, der für die anomale Leichtigkeit[32]) des Hofmann-Abbaus in diesen Fällen verantwortlich ist. In der Konstitution dieser Desazakörper sehen wir einen eindrucksvollen Beweis für die Richtigkeit der Deutung des recht komplizierten Abbauweges.

[29]) M. Freund, B. 38, 3234 (1905); M. Freund und E. Speyer, B. 49, 1287 (1916).

[30]) H. Wieland und M. Kotake, A. 444, 75 (1925).

[31]) C. Schöpf und F. Borkowsky, A. 452, 249 (1927).

[32]) M. Freund (B. 38, 3234) erwähnt die besondere Leichtigkeit, mit der cyclische Äther unter Amin-Abspaltung gebildet werden; Methoxylgruppen stoßen ihr Methyl ab, um den Ringschluß zu ermöglichen.

Versuchsteil

Versuch zur Meerwein-Ponndorf-Reduktion von Vomicin

1 g Aluminiumgrieß wird in 35 ccm siedendem Isopropylalkohol gelöst. Nach Zugabe von 0,5 g Vomicin wird unter Wasserabschluß 16 Stunden zum Sieden erhitzt. Rückflußkochen und anschließendes Abkühlen unter Stickstoff. Nach Klärung durch Filtrieren wird i. V. eingeengt, der Rückstand mit verd. Salzsäure ausgezogen und mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Nach dem Abdampfen des Chloroforms aus Methanol 70% des eingesetzten Vomicins zurück. Da der Nachweis kleiner Mengen des erwarteten Reduktionsproduktes, des entmethylierten Methylvomicins neben Vomicin sehr schwierig ist, wurde das zurückgewonnene Material mit Methyljodid im Rohr erhitzt; nach der Aufarbeitung fand sich kein Quartärsalz-Anteil.

Ebenso erfolglos war ein Versuch der Reduktion mit Na-isopropylat in siedendem Xylol[33]).

Versuche zur Oppenauer-Oxydation des entmethylierten Methylvomicins (IX)

Reihenversuche mit Aluminium-phenolat oder Kalium-tert.-butylat als Katalysator, Aceton, Cyclohexanon oder Benzophenon als Oxydationsmittel, Xylol oder tert. Butanol als Lösungsmittel gaben lediglich unverändertes Ausgangsmaterial zurück. Nach Baker und Adkins[34]) kommt dem Fluorenon als Oxydans eine gewisse Überlegenheit zu. Das Kochen von Base IX mit Kalium-t-butylat und Fluorenon in tert. Butylalkohol war jedoch mit totaler Verschmierung verbunden; das Reaktionsprodukt enthielt keine in verd. Säure lösliche Substanz mehr.

Emde-Abbau von Methyl-vomiciniumsalz durch katalytische Hydrierung

Methyl-vomicinium-chlorid nimmt bei der katalytischen Hydrierung in wäßriger Lösung etwa 1,3 Mol Wasserstoff auf. Die Hydrierlösung wird leicht ammoniakalisch gemacht, mit Chloroform die flockige Fällung ausgezogen. Beim Abdampfen des Chloroforms hinterbleibt ein mit Kristallen durchsetztes Öl, dessen Menge einem 8—10proz. Emde-Abbau entspricht. Die wäßrige Mutterlauge wurde mit Essigsäure angesäuert, i. V. eingeengt bis zur Kristallisation des hydrierten quartären Salzes. Der Vergleich dieses quartären Methylsulfats wie auch des daraus bereiteten Perchlorats mit den aus Dihydrovomicin hergestellten quartären Salzen ergab Übereinstimmung in Schmp. (Zers.), Mischschmp. und Löslichkeit.

Durch systematische Änderung der Hydrierbedingungen gelang es, das Verfahren bezüglich des Tertiäranteils zu verbessern. Methanol als Lösungsmittel lieferte 20% d. Th. Ein Zusatz von Ammoniak verminderte stark die Hydriergeschwindigkeit, erhöhte aber die Gesamt-Wasserstoffaufnahme und die Ausbeute an Emde-Abbauprodukt. 1 g Vomicin-chlormethylat in 25 ccm Methanol liefern auf Zusatz von 0,04 ccm konz. wäßrigem Ammoniak mit Pt aus PtO_2 als Katalysator 0,385 g tertiäre Base = 45% d. Th. Vergrößerung des Ammoniakzusatzes auf 0,15 ccm bzw. 0,5 ccm steigerte die Ausbeute an Abbaubase auf 61 bzw. 72% d. Th.

70 mg PtO_2 werden in 240 ccm Methanol vorreduziert; alsdann werden 10 g Methyl-vomicinium-methylsulfat gelöst und nach Zusatz von 5 ccm konz. wäßrigem Ammoniak unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 8 Stunden ist die Wasserstoffaufnahme mit 1100 ccm beendet

[33]) R. B. Woodward, N. L. Wendler und F. J. Brutschy, Am. 67, 1425 (1946).

[34]) Am. 62, 3305 (1940); vgl. W. E. Doering, G. Cortes und L. H. Knox, Am. 69, 1700 (1947).

(=2,4 Mol). Nach Entfernung des Platins wird die Methanollösung nach Zusatz von 2 ccm Eisessig auf dem Wasserbad vom Lsm. befreit, der Rückstand mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet. Die getrocknete Chloroformlösung wird an Al_2O_3 entfärbt und hinterläßt beim Eindampfen 5,2 g eines nahezu farblosen Lacks, einem Emde-Abbau von 76 Proz. d. Th. entsprechend. Nach Lösen in 10 ccm Chloroform scheiden sich auf Alkoholzusatz 2,98 g Kristalle vom Schmp. 187—194° aus. Aus den Mutterlaugen weitere 1,09 g Kristallisat vom Schmp. 122—140° und noch 0,61 g vom Schmp. 110—115°.

Nach sechsmaligem Umlösen abwechselnd aus Alkohol und Aceton erhält man eine scharf bei 204° schmelzende, in farblosen Nadeln kristallisierende Spitzenfraktion, deren Löslichkeit 12,5 mg pro ccm Methanol bei 25° beträgt.

Zur Analyse gelangen aus Alkohol umkristallisierte, bei 100° i. V. getrocknete Präparate:

$C_{22}H_{28}O_3N_2$ (368.24)	Ber.	C 71,70		H 7,66		N 7,61		NCH_3 7,88
	Gef.	„ 72,37	71,74	„ 7,59	7,94	„ 7,72	7,62	„ 7,55

Optische Drehung: $[\alpha]_D^{15} = +89°$ (Chloroform).

Die Fraktionierung der leichter löslichen, in der Mutterlauge verbliebenen Anteile ist außerordentlich mühsam. In bescheidener Menge konnte eine Fraktion vom scharfen Schmp. 131° gefaßt werden, die nach Trocknen bei 80° i. V. folgende Analysenresultate zeigte:

Gef. C 72,20 H 7,38 N 7,56.

Es dürfte sich somit um eine isomere Base $C_{22}H_{28}O_3N_2$ handeln.

Für die Einheitlichkeit eines dritten Präparats vom Schmp. 180—181°, das ebenfalls auf die gleiche Bruttoformel stimmt, können wir nicht einstehen.

Mit geringerer Mühe läßt sich ein Präparat der das Hauptprodukt darstellenden hochschmelzenden Base erhalten, wenn man das quartäre Salz in wäßriger Lösung ohne Zusatz hydriert und den erhaltenen tertiären Anteil einmal umkristallisiert; man muß allerdings die sehr geringe Ausbeute in Kauf nehmen.

Quantitative Bestimmung des bei der Hydrierung in Freiheit gesetzten Methanols: 1 g reines Chlormethylat wird in 25 ccm Wasser gelöst und mit PtO_2 hydriert. Von der Hydrierlösung werden zwei Drittel abdestilliert. Die Denigès-Probe gestattet einen leichten Nachweis des Methylalkohols im Destillat. Die v. Fellenbergsche Methode[35]) gestattet die quant. colorimetrische Bestimmung auf der Grundlage der Denigès-Reaktion. Mit dem Filter S57 des Zeiß-Pulfrich-Photometers wird die Eichkurve aufgenommen. Mehrere Proben ergaben 78—90% der aus der Lackausbeute an tertiärem Material zu erwartenden Methanolmenge.

Reaktion mit Bromwasserstoffsäure: 600 mg der Base $C_{22}H_{28}O_3N_2$ vom Schmp. 204° werden in 3,6 ccm Eisessig und 1,2 ccm rauchender Bromwasserstoffsäure (d 1,78) in Anwesenheit von 0,3 g rotem Phosphor fünf Stunden unter Rückfluß gekocht. Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform liefert den Brom-dihydrodesoxy-Körper als in Alkohol schwer lösliches Kristallisat vom Schmp. 154—156°. Ausbeute 60% d. Th.

$C_{22}H_{27}O_2N_2Br$ (431.15)	Ber.	C 61,25	H 6,31	N 6,49
	Gef.	„ 61,85	„ 5,94	„ 6,53.

[35]) Bioch. Ztschr. 85, 45 (1918).

Base $C_{22}H_{28}O_2N_2$ (XIII)

Die Entbromung wird unmittelbar mit dem Rohprodukt des Bromkörpers vorgenommen. Dazu wird die heiße Bromwasserstoff-Lösung vom Phosphor abfiltriert, das Filtrat i. V. eingedampft, der zurückbleibende Lack in Methanol in Gegenwart einiger Tropfen Eisessig mit Zinkstaub entbromt. Nach drei- bis vierstündigem Kochen wird vom Zinkstaub abgesaugt, mit wäßrigem Ammoniak und Chloroform aufgearbeitet. Nach mehrfachem Umkristallisieren aus Methanol erhält man aus 600 mg 204°-Base 140 mg eines bei 153° schmelzenden, einheitlichen Kristallisats. Zur Analyse wird bei 100° i. V. getrocknet:

$C_{22}H_{28}O_2N_2$ (352,26) Ber. C 74,96 H 8,00 N 7,95
Gef. „ 75,14 „ 7,80 „ 7,72.

Das in Wasser schwer lösliche Chlorhydrat ist auch zur Reinigung der Base geeignet. Wichtig ist die Verwendung reinen Ausgangsmaterials.

Versuchen zur katalytischen Hydrierung der Base, auch mit sehr aktiven Kontakten, war kein Erfolg beschieden.

Benzalverbindung. 100 mg Base $C_{22}H_{28}O_2N_2$ werden in 3 ccm. abs. Alkohol gelöst, mit 0,1 ccm frisch dest. Benzaldehyd und 2 Tropfen 20proz. alkoholischer Kalilauge versetzt und 15 Stunden gekocht. Beim Abkühlen kristallisieren 60 mg gelbe Nadeln, die nach Umlösen aus Chloroform-Methanol bei 185° schmelzen.

$C_{29}H_{32}O_2N_2$ (440,28) Ber. C 79,06 H 7,32
Gef. „ 79,02 „ 7,03.

Methyl-desoxyvomicinium-methylsulfat

20 g farbloses Desoxyvomicin, aus Benzol-Methanol umkristallisiert, bei 130° im Hochvakuum getrocknet, werden in 100 ccm abs. Benzol gelöst und mit 15 ccm frisch destilliertem Dimethylsulfat (eine Probe darf beim Schütteln mit Wasser keine saure Reaktion geben) auf dem Wasserbad unter peinlichem Feuchtigkeitsabschluß am Rückflußkühler gekocht. Nach 20 Min. beginnen sich aus der klaren Lösung Kristallkrusten abzuscheiden; nach einer Stunde ist der Kolbeninhalt zum Kristallbrei erstarrt. Nach weiteren drei Stunden Erwärmen läßt man erkalten, saugt ab, verreibt die Krusten in der Reibschale mit Benzol, saugt ab, läßt trocknen. Ausbeute an fast farblosem Material quantitativ. Beim Versetzen der wäßrigen Lösung mit Alkali darf keine Trübung auftreten, wenn die Reagentien völlig wasserfrei waren.

Das Methyl-desoxyvomicinium-methylsulfat ist sehr leicht löslich in Wasser; aus kleinem Volumen Alkohol kristallisiert es in farblosen Stäbchen, die gegen 230° sintern und sich gegen 240° unter Aufschäumen zersetzen.

Beim Vergleich mit den quartären Salzen der Neodesoxyvomicinium-Reihe stellte sich heraus, daß die Zersetzungspunkte kein geeignetes Reinheitskriterium darstellen, in der Mischung keine Depression zeigen. Umkristallisieren der Salze bis zur Konstanz der Löslichkeit erwies sich als viel sicherer Hinweis auf Reinheit und Einheitlichkeit.

Das rohe Methyl-desoxyvomicinium-methylsulfat enthält schwankende Mengen des Salzes der Neoreihe, meist zwischen 10 und 20 % beigemischt, wie die ersten orientierenden Versuche zum Emde-Abbau ergaben. Fraktionierte Kristallisation des aus dem Methylsulfat mit Kaliumjodid in wäßriger Lösung bereiteten quartären Jodids aus Methanol gestattet die Trennung; das Neosalz ist der am schwersten lösliche Anteil.

Methyl-desoxyvomicinium-Salze

Pikrat. Leicht löslich in Aceton, schwer in Methanol. Gegen 85° beginnende Rotfärbung, langsames Erweichen bis zum bei 170° liegenden Schmp.

Jodid. Aus Methanol in Prismen, die sich an der Luft oberflächlich grün färben. Bei 215—220° beginnende Verfärbung, gegen 260° Schmp. (Zers.). Löslichkeit bei 19°: 30,8 mg pro ccm Methanol. Analysiert wird ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{26}H_{27}O_3N_2J$ (506,16) Ber. C 54,53 H 5,38 N 5,53
Gef. „ 54,92 „ 5,60 „ 5,38.

Methylimidbestimmung: 4,510 mg quart. Jodid, 3,875 mg AgJ.

Ber. für 2 $(N)CH_3$ 5,9 Gef. $(N)CH_3$ 5,5.

Methoxylbestimmung ergab Nullwert.

Bromid. Scheidet sich aus der wäßrigen Lösung des Methylsulfats auf Zusatz von Natriumbromid in speckig glänzenden Blättchen aus, die aus sehr wenig Wasser umgelöst werden. Verfärbung beginnt bei 207°, bei 300° ist Subst. schwarz ohne Schmelzerscheinung. Löslichkeit bei 20° in Wasser: 124 mg pro ccm.

Überführung in Neodesoxyvomicinium-Salz

1 g reines Methyl-desoxyvomicinium-jodid (aus Methylsulfat) werden in 30 ccm Methanol unter Zusatz eines kleinen Jodkristalls 2 Tage rückfließend gekocht. Einengen und fraktionierte Kristallisation liefern insgesamt 640 mg reines Ausgangsmaterial zurück; als am schwersten löslicher Anteil werden 215 mg eines quartären Jodids erhalten, dessen Löslichkeit in Methanol bei 20° zu 6,0 mg pro ccm gefunden wird. Auch die erst oberhalb 240° beginnende Verfärbung entspricht den Daten des Neo-jodids.

Um die Bedingungen der Darstellung des Neo-jodids aus Desoxyvomicin und Methyljodid im Einschlußrohr nachzuahmen, wurde folgender Versuch durchgeführt: 0,3 g Methyl-desoxyvomicinium-jodid werden mit 1 ccm Methyljodid im Rohr 3 Stunden auf 100° erhitzt. Der mit Schmieren durchsetzte hellbraune Kristallbrei wird mit warmem Methanol digeriert. 200 mg bleiben ungelöst zurück und erweisen sich nach Umkristallisieren als reines Neodesoxyvomicin-jodmethylat. Chloroform ist ungeeignet als Lösungsmittel für die Umlagerung: es findet völlige Verschmierung statt.

Methyl-neodesoxyvomicinium-Salze

Die Darstellung des Jodids aus farbl. Desoxyvomicin und Methyljodid[15a]) ist präparativ sehr wenig befriedigend; die Auffindung einer brauchbaren Ersatzreaktion ist nicht gelungen. Sowohl Desoxyvomicin als auch das Methyl-neo-jodid sind praktisch unlöslich in Methyljodid. Der Versuch, durch Methanol als Lösungsmittel den Prozeß rationeller zu gestalten, führte in einer modifizierten Williamson-Synthese zu Desoxyvomicin-jodhydrat und Dimethyläther, der über die Schwefelsäureverbindung nachgewiesen wurde.

Wegen des heterogenen Reaktionsverlaufs wurden jeweils nur 1—2 g Desoxyvomicin in einem Röhrchen umgesetzt; die Base war feinst gepulvert und bei 120° im Hochvakuum getrocknet. Nach 6 stündigem Erhitzen mit 3—4 ccm Methyljodid auf 100° wird abgedampft, nach Digerieren mit Methanol — mehrere Stunden stehen lassen — abgesaugt, mit Methanol-Chloroform 1 : 1 ausgewaschen. Das in 30—50 proz. Ausb. erhaltene Jodmethylat ist für die Abbaureaktionen genügend rein.

Aufarbeitung der Mutterlaugen: Nach Abdampfen des Lsm. i. V. wird mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, die getrocknete Chloroformlösung an Aluminiumoxyd entfärbt, eingeengt, mit Alkohol versetzt. Fraktionieren des Kristallisats aus Alkohol liefert neben farblosem Desoxyvomicin (Schmp. 206°) zu 2,5% des

Einsatzes feine farblose Nadeln, die gegen 310° unter Zers. schmelzen und mit *Neodesoxyvomicin* im Schmp. keine Depression geben. Das bei 100° i. V. getrocknete Präparat gelangt zur Analyse.

$C_{22}H_{24}O_3N_2$ (364,21) Ber. C 72,49 H 6,64
Gef. „ 72,55 H 6,50.

Methyl-neodesoxyvomicinium-jodid. Mehrfach aus viel Methanol umkristallisiert farblos, gegen 245° beginnende Rötung, oberhalb 270° Zers. unter Schwärzung. Löslichkeit in Methanol bei 19°: 6,4 mg pro ccm.

Methylimid-Bestimmung des Methyl-neodesoxyvomicinium-jodids:

5,341 mg Subst., 3,570 mg AgJ

$C_{23}H_{27}O_3N_2J$ (506,16) Ber. für 2 (N)CH_3 5,9
Gef. 4,3

Kein Methoxylgehalt.

Bromid. In derben Kristallen aus Wasser. Oberhalb 240° Verfärbung und Zers. ohne Sinter- und Schmp. Löslichkeit in Wasser bei 20°: 22 mg pro ccm. Die Löslichkeiten der Brom- und Jodmethylate von Desoxyvomicin und der Neobase verhalten sich also wie 5:1.

Pikrat. Aus Methanol in gelben Nadeln. Rötung beginnt bei 110°; langsames Erweichen bis zum Zers.-Punkt bei 190°.

Neodesoxyvomicin

Die katalytische Hydrierung wird wiederholt, da das Ergebnis der früheren Analyse[18]) nicht eindeutig ist. Der schwer lösliche Anteil des Hydrierungsproduktes stellt die Dihydroverbindung dar, die nach mehrfachem Umkristallisieren aus Alkohol bei 327° (Block) schmilzt.

$C_{22}H_{26}O_3N_2$ (366,23) Ber. C 72,10 H 7,15
Gef. „ 72,15 „ 6,87

Acetylierung: Der negative Erfolg des früheren Versuches bei 100° hat seine Ursache in der außerordentlich geringen Löslichkeit der Neobase. 250 mg Neobase werden mit 5 ccm Acetanhydrid und etwas Natriumacetat gekocht, wobei die Base im Laufe von fünf Stunden in Lösung geht. Nach weiteren drei Stunden Kochen wird der Anhydridüberschuß i. V. abdestilliert, der Rückstand mit Ammoniak-Chloroform digeriert. Nach Reinigung an Al_2O_3 wird eingedampft. Aus Methanol 180 mg farblose Nädelchen, die aus Essigester, dann aus Methanol umkristallisiert werden und bei 233—234° schmelzen.

$C_{24}H_{26}O_4N_2$ (406,23) Ber. C 70,91 H 6,59 Acetyl 10,58
Gef. „ 71,00 „ 6,26 „ 11,16
11,52

Gelbes Desoxyvomicin und Dimethylsulfat

Mit 80 ccm abs. Benzol und 5 ccm trockenem Dimethylsulfat, die auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt werden, extrahiert man 5 g gelbes Desoxyvomicin unter strengstem Wasserabschluß aus der Hülse. Da die Bildung des quartären Salzes sehr langsam erfolgt, soll die Extraktion der Base etwa 2 Tage in Anspruch nehmen, um eine Abscheidung der gelben Base aus der benzolischen Lösung zu verhindern. Das quartäre Methylsulfat setzt sich in schwach gefärbten mikrokrist. Krusten ab, die abgesaugt und mit Benzol ausgewaschen werden. Das quartäre Salz ist sehr leicht löslich in Wasser und den Alkoholen. Umkristallisiert wird durch Lösen in wenig warmem Äthanol, tropfenweisem Zusatz von Aceton bis zur Trübung und Animpfen.

Zu Büscheln vereinigte Nadeln, die auch nach häufigem Umlösen noch blaßgelb sind und gegen 249° (Zers.) schmelzen.

$C_{22}H_{24}O_3N_2 \cdot (CH_3)_2SO_4$ (490,32) Ber. C 58,74 H 6,17
Gef. „ 58,92 „ 6,32.

Der Emde-Abbau mit Natriumamalgam liefert in 20-proz. Ausbeute die Base $C_{23}H_{28}O_3N_2$ vom Schmp. 178°, die das Abbauprodukt der quartären Salze des farblosen Desoxyvomicins darstellt.

$C_{23}H_{28}O_3N_2$ (380,24) Ber. C 72,59 H 7,42
Gef. „ 72,73 „ 7,53

Methyl-vomicinium-bromid und Bromwasserstoff

H. Wieland und O. Müller[36]) öffnen den Ätherring des quartären Salzes durch Kochen mit Bromwasserstoff-Eisessig, entbromen das isolierte Brom-desoxy-vomicin-brommethylat mit Zinkstaub in Methanol-Eisessig. Da das erhaltene Desoxyvomicin-brommethylat seiner Beschreibung nach mit keiner der drei oben angegebenen quartären Salzreihen des Desoxyvomicins übereinstimmt, wiederholten wir die Darstellung.

Die Aufarbeitung des bromierten Zwischenprodukts wurde etwas variiert. Ohne Verdünnen wurde vom Phosphor abfiltriert, das Filtrat i. V. bis zur Hälfte eingeengt. Beim Abkühlen reichliche Kristallabscheidung; nach Trocknen über KOH 6 g aus 20 g Vomicin-brommethylat. Mehrfaches Umkristallisieren aus viel Methanol liefert 4 g eines einheitlichen Materials von der konstanten Löslichkeit von 7,6 mg pro ccm Methanol bei 12°. Aus den Mutterlaugen-Kristallisaten von wesentlich höherer Löslichkeit konnte kein definierter Körper erhalten werden.

Das schwer lösliche quartäre Salz wird zur Analyse bei 100° i. V. getrocknet:

$C_{23}H_{26}O_3N_2Br_2$ (538,1)	Ber.	C 51,29		H 4,87		Br 29,70
$C_{23}H_{27}O_3N_2Br_3$ (619,0)	Ber.	„ 44,60		„ 4,40		„ 38,73
	Gef.	C 45,43	45,50	„ 4,67	4,60	„ 38,47.

Insbesondere der Bromwert läßt keinen Zweifel daran, daß nicht das Brom-desoxy-vomicin-brommethylat vorliegt, sondern dessen Hydrobromid. Zur Aufnahme der zusätzlichen Molekel HBr kommen zwei Doppelbindungen in Frage. Das farblose Desoxyvomicin addiert Bromwasserstoff an der semicyclischen Doppelbindung[16]). Dennoch möchten wir annehmen, daß der vorliegende Tribromkörper den Bromwasserstoff im Lactamring aufgenommen hat. Der hydrierende Abbau zeigt nämlich, daß die zum basischen Stickstoff allylständige Doppelbindung vorhanden ist. 600 mg quartärer Tribromkörper liefern bei der Reduktion in Essigsäure mit Natriumamalgam 103 mg tertiäres Material (Rohausbeute). Beim Anreiben mit Methanol Kristalle, die auch nach häufigem Umkristallisieren keinen scharfen Schmp. besitzen und sich in ihrem Analysenergebnis keiner Formel fügen. Die katalytische Hydrierung des quartären Tribromkörpers in Wasser gibt bescheidene Mengen an tertiärem Material. Arbeiten in Methanol mit Ammoniakzusatz erhöht wie beim Vomiciniumsalz die Chance des Emde-Abbaus; aus 400 mg Salz werden 230 mg nicht krist. tertiärer Basen erhalten.

So wenig wie der hydrierende Abbau verlief auch der Versuch der Entbromung des quartären Tribromkörpers zufriedenstellend. Sowohl unter milden wie unter scharfen Bedingungen der Zinkstaubenthalogenierung wird eine Substanz erhalten, deren Löslichkeit 8,5 mg pro ccm Methanol beträgt. Zers. gegen 202°. Die Analysen stimmen auf keine Formel (C 54,40 und 54,96, H 5,78 und 5,78). Desoxyvomicin-brommethylat würde C 60,13, H 5,88 erfordern. Auch die früher für das Entbromungsprodukt gegebene Analyse weicht um 5% im Kohlenstoffgehalt, allerdings nach oben, ab.

[36]) A. **545**, 108 (1940).

Emde-Abbau von Methyl-desoxyvomicinium-Salz

Mit Natriumamalgam. Base $C_{23}H_{28}O_3N_2$ (XXI)

5 g reines quartäres Jodid (frei von Neo-Salz) werden in siedendem Wasser mit Silberchlorid digeriert. Das 80 ccm betragende Filtrat incl. Waschwasser wird mit 10 ccm Eisessig und 15 ccm 40-proz. Natriumacetatlösung versetzt und auf siedendem Wasserbad im CO_2-Strom erwärmt. In kleinen Anteilen werden insgesamt 120 g 5-proz. Natriumamalgam unter energischem Schütteln eingetragen. So oft eine Trübung die Annäherung an den Neutralpunkt anzeigt, wird 1 ccm Eisessig zugegeben. Zum Schluß wird mit Salzsäure kongosauer gemacht und noch eine Stunde auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Eingießen in Ammoniak wird in Chloroform aufgenommen, der gewaschene und getrocknete Auszug an Al_2O_3 entfärbt und auf dem Wasserbad eingedampft. Beim Anreiben des Rückstandes mit kaltem Methanol 0,9 g Kristalle. Nach mehrfachem Umlösen aus Methanol erhält man 650 mg farblose Tafeln vom konstanten Schmp. 177—178°.

Analysiert wird das bei 100° i. V. getrocknete Präparat.

$C_{23}H_{28}O_3N_2$ (380,24)	Ber. C	72,59	H	7,42	N	7,37	OCH_3 8,15	NCH_3 7,64
	Gef. „	72,84	„	7,37	„	7,14	„ 8,57	„ 9,87

Löslichkeit in Methanol bei 17°: 6,2 mg pro ccm.

$$a_D^{20} = +4{,}54 \qquad [\alpha]_D^{20} = +190° \text{ (Chloroform)}$$

Mit katalytisch erregtem Wasserstoff. Basen $C_{22}H_{30}O_2N_2$

Das verwendete Methyl-desoxyvomicinium-methylsulfat war das aus den Komponenten erhaltene Rohmaterial, das, wie sich später herausstellte, 15—18% des Salzes der Neo-Reihe enthielt.

5 g quartäres Salz werden in 40 ccm Wasser gelöst und mit 0,1 g Platinoxyd unter Wasserstoff geschüttelt. Nach 4 Stunden ist mit 895 ccm (3,5 Mol) die Wasserstoffaufnahme beendet. Der mit Ammoniak gefällte voluminöse Niederschlag wird abgesaugt, gut mit Wasser gewaschen und scharf getrocknet: 3,53 g. Diese nahezu der Theorie entsprechende Ausbeute an tertiärer Base sowie die Tatsache, daß im wäßrigen Filtrat keinerlei quartäres Material nachweisbar ist, deuten auf einen quantitativen Emde-Abbau.

Das tertiäre Material wird in 80 ccm heißem Methanol gelöst, nach Aufkochen mit Tierkohle auf 20 ccm eingeengt. Die schon in der Hitze beginnende Kristallausscheidung ist nach 4-stündigem Stehen bei Raumtemp. beendet: 1,59 g vom Schmp. 160—200°. Fraktionierte Kristallisation aus Chloroform-Methanol ergibt, daß es sich um ein Gemisch gleicher Teile der isomeren Hydrierbasen des Desoxyvomicins handelt.

Der schwerer lösliche Anteil, von dem etwa 0,45 g in reinem Zustand erhalten werden können, ist die Base vom Schmp. 210—212°, identisch

in Schmp., Misch-Schmp., Drehwert, Kristallform und Löslichkeit. In farblosen Prismen aus Alkohol.

$C_{22}H_{30}O_2N_2$ (354,26) Ber. N 7,91 1 NCH_3 8,19
Gef. „ 8,37 „ 8,73 OCH_3 null

$[\alpha]_D^{20} = +74°$ (Chloroform); frühere Angabe[4]) [15a]): $+73°$

Aus dem leichter löslichen Kristallisat werden 380 mg der isomeren Base in reinstem Zustand erhalten. Aus Alkohol farblose, glasklare Polyeder vom Schmp. 179—180°. Keine Depression mit einem Präparat aus Desoxyvomicin.

$C_{22}H_{30}O_2N_2$ (354,26) Ber. C 74,52 H 8,53 1 NCH_3 8,19
Gef. „ 74,79 „ 8,35 „ 9,84

Drehwert in Chloroform: $[\alpha]_D^{20} = -101°$.

Die methanolische Mutterlauge des Mischkristallisats hinterläßt beim Eindampfen einen Lack, der in Chloroform aufgenommen, an Aluminiumoxyd gereinigt wird. Der Eindampfrückstand kristallisiert nach längerem Stehen aus Aceton. Nach mehrfachem Umlösen erhält man 135 mg verfilzte, seidige Nadeln vom Schmp. 177°. Es handelt sich um das Emde-Abbauprodukt des als Verunreinigung dem Ausgangsmaterial beigemengten Neo-Salzes.

Bestimmung des Methanols in der Hydrierlösung. Das mehrfach umkristallisierte quartäre Jodid wird mit Silberbromid in das Brommethylat übergeführt. 1 g quartäres Bromid wird in 35 ccm Wasser gelöst und mit Platin hydriert. Unbeschadet des gegen Ende der Wasserstoffabsorption sich ausscheidenden Bromhydrats wird in Destillationsapparatur übergeführt. Von dem mit dem Waschwasser 45 ccm betragenden Volumen werden 25 ccm abdestilliert. Mit dem S. 206 erwähnten Verfahren wird die Methanolmenge zu 52 mg bestimmt, was einer Abspaltung von 0,75 Äquivalenten Methylalkohol bei der Hydrierung entspricht.

Der Emde-Abbau des Methyl-neodesoxyvomicinium-Salzes mit Natriumamalgam

Die früher gegebene Vorschrift[9]) kann durch Arbeiten in konzentrierterer Lösung und Verwendung eines größeren Überschusses an Natriumamalgam erheblich verbessert werden. 4,1 g Neodesoxyvomicin-chlormethylat werden wie oben mit insgesamt 110 g 5proz. Natriumamalgam unter Stickstoff behandelt. Es wird mit Ammoniak-Chloroform aufgearbeitet, die gewaschene, getrocknete und an einer Al_2O_3-Säule entfärbte Chloroformlösung eingedampft und mit Alkohol versetzt. Unter Aufarbeitung der Mutterlaugen beträgt die Gesamtausbeute an krist. Rohprodukt 2,33 g (62% d. Th.). Etwa die Hälfte davon wird bei der Fraktionierung aus Methanol oder Essigester als Spitzenfraktion vom Schmp. 217° erhalten. Dieser Anteil ist die früher beschriebene Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ (frühere Schmp.-Angabe 220°). Diese Base sei als Base I gekennzeichnet, da aus ihren Mutterlaugen eine *Base* $C_{23}H_{30}O_3N_2$ *II* nach langwieriger frakt. Kristallisation aus Äthanol und Essigester isoliert werden konnte. Aus Essigester klare Polyeder, die an der Luft verwittern und bei 206° schmelzen. Mischung mit farblosem Desoxyvomicin (Schmp. 206°) schmilzt bei 174—179°. Zur Analyse gelangt ein bei 100° i. V. getrocknetes Präparat.

$C_{23}H_{30}O_3N_2$ (382,26) Ber. C 72,20 H 7,91 2 NCH_3 16,24
Gef. „ 72,31 „ 7,89 „ 17,31.

Optische Drehung in Chloroform: $[\alpha]_D^{20} = +34°$.

Für die Base I wurde die Drehung zu $+99°$ bestimmt. Die Ausbeute am Isomeren II ist gering. Während die Base I sehr leicht 2 Mol katalytisch erregten Wasser-

stoffs aufnimmt, wird die Base II unter den Bedingungen der Mikrohydrierung mit PtO_2 in Eisessig unverändert zurückgewonnen.

Jodmethylat der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ I: 1 g Base wird mit 4 ccm Methanol und 1 ccm Methyljodid gekocht. Nach kurzer Zeit ist die Base in Lösung gegangen, und schon in der Hitze scheidet sich das schwer lösliche quartäre Salz ab. Nach zweimaligem Umlösen aus Methanol prismatische Stäbchen vom Schmp. 294°.

Jodmethylat der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ II wird analog erhalten. Das leicht lösliche Salz schmilzt nach Umkristallisieren aus Methanol bei 280° (Zers.).

Acetylierung der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ I

250 mg Substanz werden mit 5 ccm Essigsäureanhydrid drei Stunden gekocht, das überschüssige Anhydrid nach dem Erkalten mit Wasser zerstört. Aufarbeitung mit Ammoniak-Chloroform. Der Abdampfrückstand wird mehrfach mit warmem Petroläther-digeriert. Nach Einengen der Auszüge und kurzem Stehen Kristallisation in zu Büscheln vereinigten Nadeln. Nach dreimaligem Umlösen aus Petroläther Schmp. 137—138°. Analysenpräparat bei 100° i. V. getrocknet.

$C_{25}H_{32}O_4N_2$ (424,28)	Ber. C 70,71	H 7,60
$C_{27}H_{34}O_5N_2$ (466,29)	Ber. „ 69,48	„ 7,35
	Gef. „ 69,68	„ 7,22.

Acetylbestimmung: 23,9 mg Substanz; Verbrauch an n/30-NaOH entspricht 4,501 mg $COCH_3$.

Ber. für 2 $-COCH_3$ 18,45
Gef. $-COCH_3$ 18,84.

Emde-Abbau von Methyl-neodesoxyvomicinium-chlorid durch katalytische Hydrierung

Aus 1 g quartärem Jodid wird mit frisch gefälltem Silberchlorid das Chlormethylat bereitet, das in 20 ccm Wasser gelöst unter Zusatz eines Tropfens 2n-Salzsäure mit PtO_2 unter Wasserstoff geschüttelt wird. Nach 7 Stunden ist die Gasaufnahme mit 150 ccm (3,3 Mol) beendet. Die übliche Aufarbeitung liefert als gesamten Tertiäranteil 750 mg, was einem quantitativen Emdeabbau entspricht. Es bedarf fünfmaligen Umkristallisierens aus wenig Methanol, bis mit 177° der konstante Schmp. erreicht ist. Farblose, verfilzte seidige Nadeln, die zur Analyse bei 100° i. V. getrocknet werden.

$C_{23}H_{32}O_3N_2$ (384,28)

Ber. C 71.82	H 8,40	N 7,29	2 NCH_3 15.1
Gef. „ 72.12; 72,15	„ 8,57; 8,39	„ 6,90; 7.10	„ 18,1.

Reduktion mit Natriumamalgam

150 mg der vorstehenden Base vom Schmp. 177° werden in Essigsäure-Natriumacetat mit 10 g 5-proz. Natriumamalgam behandelt. Die übliche Aufarbeitung ergibt nach Vorreinigung an Al_2O_3 aus Methanol mit 30—35% Ausbeute Kristalle, die bei 181—187° schmelzen. Nach dreimaligem Umlösen, zuerst aus Aceton, dann aus Methanol erhält man farblose Oktaeder vom konstanten Schmp. 194—195°.

Nach Trocknen bei 100° i. V. wird analysiert.

$C_{23}H_{34}O_3N_2$ (386,30)	Ber. C 71,45	H 8,87	N 7,26
	Gef. ,, 71,14	,, 8,99	,, 7,64.

Die vermutete Identität mit dem hochschmelzenden Tetrahydro-derivat (Schmp. 214°)[9]) der Base $C_{23}H_{28}O_3N_2$ (Schmp. 217°) erwies sich als unzutreffend; der Mischschmp. liegt bei 175—181°.

Die Eliminierung des basischen Stickstoffs aus den Emde-Abbauprodukten des Methyl-neodesoxyvomiciniumsalzes

Setzt man aus den Jodmethylaten der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ I (Schmp. 217°) sowie ihrer Tetrahydroderivate die quartären Basen in Freiheit, tritt sofort Trimethylamingeruch auf. Die quant. Verfolgung der Spaltung mit methylalkoholischer Kalilauge im Rohr ergibt nach W. Weißkopf[37]) 70% d. Th. an flüchtiger Base. Das Fehlschlagen der Isolierungsversuche des nichtbasischen Reststücks dürfte mit der Alkaliempfindlichkeit der genannten Basen zusammenhängen. Die bei der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ zu beobachtenden irreversiblen Veränderungen bei der Behandlung mit milden Alkalien beruhen übrigens nicht auf der Öffnung des Lactamringes, wie die fehlende Autoxydabilität zeigt.

Desaza-desoxy-vomicin

106 mg Jodmethylat der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ I werden in einer kleinen Retorte im Metallbad im Hochvakuum erhitzt. Gegen 270—280° Badtemperatur geht ein hellgelbes Öl über, im Kolben verbleibt keinerlei Rückstand. Das lackartig erstarrte Destillat wird in Chloroform aufgenommen. Nach Waschen mit Wasser, verd. Salzsäure und wieder Wasser wird die Chloroformlösung getrocknet und eingedampft. Aus wenig Äther nach kurzem Stehen 15,6 mg farblose Polyeder des Desazakörpers, einer Ausbeute von 23 Proz. d. Th. entsprechend. Umkristallisieren aus wenig Alkohol führt zu zarten Nadeln, die bei 186° schmelzen.

3,181 mg Substanz (bei 100° i. V. getr.): 8,755 mg CO_2, 1,908 mg H_2O; 3,310 mg Subst., 0,128 ccm N_2 (21°, 724 mm).

$C_{21}H_{23}O_3N$ (337,19)	Ber. C 74,74	H 6,87	N 4,16
	Gef. ,, 75,05	,, 6,71	,, 4,28.

Desaza-desoxy-vomicin ist auch in konz. wäßrigen Säuren unlöslich. Beim Versuch der Mikro-hydrierung mit PtO_2 in Alkohol werden 2,3 Mol Wasserstoff aufgenommen; das Hydrierungsprodukt krist. nicht.

Auch die thermische Zersetzung des bei 219° schmelzenden Chlormethylats ist präparativ verwendbar; schon Erhitzen des Chlormethylats im Reagenzglas über freier Flamme ergibt eine kleine Menge des krist. Desazakörpers. Die thermische Zersetzung im Hochvakuum muß schnell vor sich gehen, was den Kleinmaßstab vorteilhaft erscheinen läßt. Bei größeren Ansätzen, schon bei 500 mg Jodmethylat, wird aus dem schmierigen Reaktionsprodukt viel weniger Desazakörper isoliert.

Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin A

Bei der katalytischen Hydrierung der Base $C_{23}H_{30}O_3N_2$ I entstehen zwei isomere Tetrahydrobasen[9]). Das Hauptprodukt schmilzt bei 150—151° und sei mit A ge-

[37]) Dissertation München 1942.

kennzeichnet; das in minderer Menge auftretende Isomere B hat den Schmp. 212 bis 214°.

Das Jodmethylat der Base A, aus den Komponenten bei Raumtemperatur erhalten, kristallisiert aus Methanol in Nadeln, die bei 265° schmelzen. 300 mg Jodmethylat werden wie oben thermisch zersetzt. Bei 240—250° im Hochvakuum destilliert hellgelbes Öl, in das Kristalle des sublimierten Trimethyl-ammonium-jodids eingebettet sind. Aufarbeitung wie oben. Aus Äther 80 mg derbe Blöckchen, die aus Äther oder Alkohol umkristallisiert werden zu quadratischen Prismen vom Schmp. 246°.

$C_{21}H_{27}O_3N$ (341,23) Ber. C 73,85 H 7,98 N 4,11
Gef. „ 74,07 „ 8,02 „ 4,38.

Acetylierungsversuch. Einige cg Desazakörper werden mit 0,5 ccm Acetanhydrid mehrere Stunden auf sied. Wasserbad erhitzt. Nach Abdestillieren des Überschusses Anhydrid i. V. wird in Methanol aufgenommen, dessen Rückstand zur Reinigung bei 260° im HV. destilliert. Aus wenig Alkohol Kristalle, die mit dem Ausgangsmaterial in Schmp. und Mischschmp. identisch sind.

Versuch der Hydrazonbildung. 15 mg Desazakörper werden in 2 ccm Alkohol gelöst und mit 6 ccm kaltgesätt. Lösung von 2,4-Dinitro-phenylhydrazin in n/HCl drei Stunden auf siedendem Wasserbad erwärmt, wobei der Alkohol langsam abdestilliert. Nach fünfstündigem Stehen bei Raumtemperatur wird von der amorphen Fällung dekantiert, diese mit Methanol angerieben. Nach kurzem Stehen schwach gefärbte, derbe Prismen, identisch mit dem Ausgangsmaterial.

Beim *Versuch der katalytischen Hydrierung* wird keine Wasserstoffaufnahme erzielt, der Desazakörper unverändert zurückgewonnen.

Tetrahydro-desaza-desoxy-vomicin B

Das farblose Jodmethylat der Base B ist in Methanol leicht löslich und schmilzt gegen 260° u. Zers.

98 mg Jodmethylat werden wie oben thermisch gespalten. Aus Aceton-Wasser erhält man 25 mg verfilzte Nadeln, die nach Umlösen aus Äther bei 182° schmelzen. Aus dem salzsauren Auszug können 10 mg der Base $C_{23}H_{34}O_3N_2$ B zurückgewonnen werden; neben der Eliminierung des Stickstoffs findet also auch eine Abspaltung von Methyljodid statt. Die Ausbeute an Desazakörper beträgt unter Berücksichtigung des wiedergewonnenen Ausgangsmaterials 46% d. Th.

$C_{21}H_{27}O_3N$ (341,23) Ber. C 73,85 H 7,98
Gef. „ 74,11 „ 7,75.

Auch hier gibt der Versuch der Acetylierung das Material unverändert zurück.

Ein einfaches Verfahren zur Gewinnung von α-Angelicalacton und über die hydrierende Spaltung sauerstoffhaltiger Ringe

Von *Johann Heinrich Helberger*, *Seyit Ulubay* und *Halidun Civelekoglu*

[Eingelaufen am 26. November 1946]

Destilliert man Lävulinsäure unter Normaldruck, so erfolgt, wie zuerst L. Wolff[1]) beobachtete, stets in mehr oder minder großem Umfang

[1]) A. 229 249 (1885).

Zersetzung in dem Sinn, daß unter Abspaltung von Wasser innere Anhydride der Lävulinsäure, die Angelicalactone, entstehen:

$$CH_3CO \cdot CH_2CH_2COOH \rightarrow \begin{cases} CH_3C = CH \cdot CH_2CO \quad (\text{O}) & \alpha\text{-Angelicalacton} \\ CH_3CH \cdot CH = CH \cdot CO \quad (\text{O}) & \beta\text{-Angelicalacton} \end{cases}$$

Wolff stellte die Bedingungen fest, unter denen optimale Ausbeuten an dem einen oder anderen der beiden leicht ineinander überführbaren isomeren Lactone erhalten werden, ohne jedoch über eine 50-proz. Ausbeute an α-Angelicalacton hinauszukommen; dabei ist noch der Umstand zu berücksichtigen, daß diese Ausbeute noch weiter und zwar wesentlich zurückgeht, wenn mehr als etwa 20 g Lävulinsäure dieser Reaktion unterworfen werden.

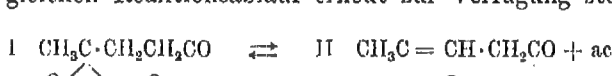
Ein anderes, zuerst von Bredt[2]), dann von Thiele, Tischbein und Lossow[3]) modifiziertes Verfahren besteht darin, die aus Lävulinsäure und Essigsäureanhydrid leicht zugängliche sogenannte Acetyllävulinsäure durch Destillation i. V. in Essigsäure und α-Angelicalacton zu spalten. Wenn aber auch, den Angaben Thieles und seiner Mitarbeiter zufolge 70—75% d. Th. an Lacton auf diesem Weg erhalten werden können, so ist das Verfahren doch umständlich, erfordert vor allem die Anwendung großer Mengen an Essigsäureanhydrid und weiter die sorgfältige Trennung des Lactons von der entstandenen Essigsäure, mit der es leicht unter Rückbildung der Acetyllävulinsäure wieder in Reaktion tritt.

Da wir an einem bequemen Verfahren zur Gewinnung des α-Angelicalactons interessiert waren, griffen wir wieder auf die alte Wolff'sche Arbeitsweise zurück, die wir dergestalt, unter Anwendung von Katalysatoren, abzuändern uns bemühten, daß die thermische Spaltung bereits bei wesentlich tieferen Temperaturen und damit schonender erfolgte. Nach systematischer Prüfung alkalischer und saurer Zusätze fanden wir, daß die letzteren die gewünschte katalytische Wirkung besaßen. Zusätze von nicht mehr als 1% Toluolsulfonsäure, Phosphorsäure oder Borsäure begünstigen die Spaltungsreaktion derart, daß sie bereits um 150° glatt vor sich geht, d. h. um mehr als 100° tiefer, als bei der von Wolff angegebenen Vorschrift. Dieser Befund führte zu einer neuen, im Versuchsteil beschriebenen Arbeitsweise[4]), mit deren Hilfe es leicht gelang, nahezu quantitative Ausbeuten an α-Angelicalacton höchsten Reinheitsgrades zu erhalten. Der Vorteil des neuen Verfahrens besteht vor allem auch darin, daß im Gegensatz zu der Wolff'schen Vorschrift

[2]) A. **256** 314 (1890).
[3]) A. **319** 180 (1901).
[4]) Das Verfahren ist Gegenstand des DRP 745313.

beliebig große Mengen Lävulinsäure in einem Ansatz verarbeitet werden können und daß auch die Möglichkeit zu einer kontinuierlichen Arbeitsweise gegeben ist.

Die Frage nach dem hier ablaufenden katalytischen Mechanismus glauben wir folgendermaßen beantworten zu können. Zunächst fällt auf, daß, während Lävulinsäure selbst schon eine recht starke Säure ist, so schwache Säuren — und gerade diese! — wie Phosphorsäure oder Borsäure eine so erhebliche katalytische Wirkung entfalten; eine reine Säurewirkung, an die man zunächst denken könnte, kann also nicht als Ursache angenommen werden. Vielmehr scheint es, daß Lävulinsäure, in ihrer tautomeren Oxy-lacton-Form reagierend, an der Oxygruppe, mit der als Zusatz verwendeten Säure verestert wird. Diese Ester (I) werden dann, gerade wie Acetyllävulinsäure, thermisch gespalten unter Bildung von α-Angelicalacton und Rückbildung der Katalysatorsäure, die damit für den gleichen Reaktionsablauf erneut zur Verfügung steht.



Dadurch, daß durch die gewählte Versuchsanordnung das bei der Entstehung von I gebildete Wasser und das Lacton (II) dauernd aus dem Gemisch entfernt werden, kann sich das Gleichgewicht immer wieder von neuem einstellen, bis praktisch quantitativer Umsatz erzielt ist.

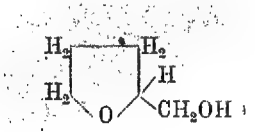
Das α-Angelicalacton war schon von Wolff als sehr reaktionsfähige Verbindung erkannt worden, mit deren Hilfe viele Derivate der Lävulinsäure leicht zugänglich sind. So entsteht z. B. mit NH_3 Lävulinsäurecamid, das wir ebenso wie das Anilid[5]) aus unserem Lacton in hervorragenden Ausbeuten und hoher Reinheit gewinnen konnten.

Besonders interessierte aber die katalytische Hydrierung des α-Angelicalactons. Lävulinsäure war schon von Sabatier und Mailhe[6]) durch Leiten ihrer mit Wasserstoff gemischten Dämpfe über Nickel in Valerolacton, und dieses von H. Adkins und K. Folkers[7]) durch energische Hydrierung über einen bariumhaltigen Kupfer-Chromit-Kontakt in 1,4-*Pentandiol* umgewandelt worden. Einige Versuche zeigten, daß α-Angelicalacton über dem von Adkins verwendeten Katalysator bei Temperaturen oberhalb 100° glatt zu Valerolacton hydriert, und dieses anschließend, ohne vorherige Isolierung oder Unterbrechung des Versuchs, oberhalb 200° glatt in 1,4-Pentandiol überführt wird. In etwa 60-proz. Ausbeute konnte so das Diol neben anderen Hydrierungsprodukten, vornehmlich Valerolacton, erhalten werden und ist somit aus α-Angelicalacton direkt leicht zugänglich geworden.

[5]) R. Lukes u. V. Prelog, C. **1929**, II, 719.
[6]) A. ch. (8) **16**, 77.
[7]) Am. Soc. **54**, 1145 (1932).

Bei der spaltenden Hydrierung des *Tetrahydrofurfuralkohols* (III), des bei der erschöpfenden Hydrierung des Furfurols entstehenden Produktes, in Gegenwart der von H. Adkins und Connor[8]) zuerst beschriebenen Kupfer-Chromit-Kontakte bei Temperaturen oberhalb 200° entsteht nach Connor und Adkins[9]) ausschließlich 1,5-Pentandiol (IV). Natta und Mitarb.[10]) kamen zu dem gleichen Befund, und eigene Versuche bestätigten ebenfalls diese Ergebnisse. Unter den im Versuchsteil angegebenen Bedingungen erzielten wir gegen 45% Ausbeute an 1,5-Pentandiol, der Rest war im wesentlichen unveränderter Tetrahydrofurfuralkohol.

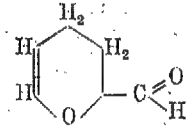
In diesem Zusammenhang interessierte die Frage, wie sich 2-Oxymethyl-tetrahydropyran (VI) bei der spaltenden Hydrierung unter analogen Bedingungen verhalten würde. Durch katalytische Hydrierung des von Scherlin, Berlin, Sserebrennikowa und Rabinowitsch[11]) zuerst dargestellten, von K. Alder und E. Rüden[12]) in seiner Konstitution als 2 Formyl-dihydropyran (V) sichergestellten dimeren Acroleins unter milden Bedingungen in Gegenwart von Raney-Nickel gewannen wir den gesättigten Alkohol (VI); dieser nahm in Gegenwart eines nach den Angaben von Adkins und Connor[9]) dargestellten bariumhaltigen Kupfer-Chromit-Kontaktes erst bei etwa 300° Wasserstoff auf. Aus dem Hydrierungsprodukt gewannen wir, neben Hexylalkohol und unverändertem Tetrahydropyran-Alkohol, in etwa 26-proz. Ausbeute 1,6-*Hexamethylendiol* (VII) in besonders reiner Form; die Verbindung wurde durch Schmp. (42°) und durch Oxydation zu Adipinsäure identifiziert.



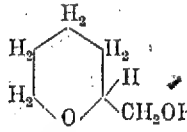
III

$HOCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2OH$

IV



V



VI

$HOCH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2OH$

VII

Demnach verläuft auch hier die hydrierende Spaltung in gleichem Sinn wie bei Tetrahydrofurfuralkohol; die offenbar größere Stabilität des sauerstoffhaltigen Sechsringes erfordert allerdings höhere Temperaturen, die dafür verantwortlich zu machen sind, daß ein Teil des Diols bereits weiter bis zum Hexanol hydriert wird.

[8]) Am. Soc. **53**, 1091 (1931); vgl. Z. ang. Ch. 1941, 470.
[9]) Am. Soc. **54**, 4678 (1932).
[10]) La Chimica e l'Industria 1941.
[11]) C. **1939**, II, 1971.
[12]) B. **74**, 905 (1941).

Den Herren Dr. Scheuing (C. H. Boehringer Sohn, Ingelheim), Dr. Hentrich (Deutsche Hydrierwerke, Rodleben) und Dr. Schulz (Degussa, Frankfurt a. M.) sprechen wir für die Überlassung von Lävulinsäure, Tetrahydrofurfuralkohol und Acrolein unseren ergebensten Dank aus.

Beschreibung der Versuche

Darstellung des α-Angelicalactons

500 g Lävulinsäure wurden mit 5 g techn. sirupöser Phosphorsäure versetzt. Das Gemisch wurde in einem 1 l-Rundkolben, mit Kapillare und einer 20 cm langen Widmerspirale versehen, in einem Heizbad vorsichtig erhitzt. An die Widmerspirale schloß ein absteigender Kühler und eine Vorlage an. Während des Versuches wurde ein Druck von 15 mm aufrecht erhalten. Nachdem das Heizbad auf etwa 150—160° erhitzt war, begann das gebildete Lacton mit Wasser überzugehen. Nach Beendigung der Destillation waren in dem Kolben 17,5 g harziger Rückstand verblieben. Der Inhalt der Vorlage, bestehend aus zwei Schichten, wurde nach Abtrennung des Wassers nochmals i. V. destilliert. Das α-Angelicalacton ging bei 55—56°/13 mm als farblose Flüssigkeit über; beim Einstellen in Eiswasser erstarrte sie sofort unter Ausbildung schöner großer Kristalle, die bei 17—18° wieder schmolzen. Die Ausbeute betrug 400 g, entsprechend fast 95% d. Th.

Lävulinsäureamid. 100 g Methanol wurden bei 0° mit Ammoniak gesättigt; Aufnahme 34 g. Unter Eiskühlung und gutem Rühren ließ man 49 g = ½ Mol α-Angelicalacton zutropfen und, nachdem alles zugegeben war, noch eine halbe Stunde weiter rühren. Dann wurde i. V. völlig eingedampft, wobei das Amid zuerst als Öl, das jedoch bald durchkristallisierte, in praktisch quantitativer Ausbeute erhalten wurde. Durch Umkristallisieren aus Chloroform-Alkohol wurden 30 g reines Amid erhalten, entsprechend etwa 70% d. Th. Schmp. 107—108°.

Lävulinsäureanilid. 9,3 g Anilin wurden unter Rühren und Kühlung mit Eis mit 9,8 g α-Angelicalacton versetzt. Nach beendeter Zugabe wurde noch zwei Stunden stehen gelassen und dann durch Reiben der Kolbenwand der Inhalt zur Kristallisation gebracht. Das rohe Anilid wurde zerkleinert, mit Äther gewaschen und getrocknet. Rohausbeute 14 g. Aus Alkohol oder Wasser wurde das Anilid in Form langer, bei 99—100° schmelzender Nadeln erhalten.

Katalytische Hydrierung des α-Angelicalactons mit Kupfer-Chromit

250 g frisch destilliertes α-Angelicalacton wurden in einem 1 l-Schüttelautoklaven zusammen mit 25 g bariumhaltigem Kupfer-Chromit-Kontakt zuerst bei 150° hydriert, bis kein Wasserstoff mehr aufgenommen wurde, was nach wenigen Minuten bereits der Fall war. Dann wurde nochmals Wasserstoff aufgepreßt und auf 240° erhitzt, wobei wieder so lange gehalten wurde, bis der Wasserstoffdruck nicht mehr merklich zurückging. Nach dem Erkalten wurde in der üblichen Weise, nach Abtrennen des Kontaktes durch Filtration, durch fraktionierte Destillation i. V. aufgearbeitet. Nach einem ziemlich erheblichen Vorlauf, bestehend vornehmlich aus Valerolacton, ging das 1,4-*Pentandiol* bei 136°/12 mm über. Die Ausbeute betrug 177 g, entspr. 68% d. Th.

Spaltende Hydrierung des Tetrahydrofurfuralkohols

600 g Tetrahydrofurfuralkohol wurden mit dem vorstehend verwendeten Katalysator in einer Menge von 50 g in einem 2 l fassenden, aus V4A-Stahl konstruierten Schüttelautoklav der Firma Andreas Hofer, Mühlheim-Ruhr, unter einem Wasserstoffanfangsdruck von 150 atü erhitzt. Bei einer Temperatur von 267°, bei der der Druck 265 atü erreicht war, begann die Wasserstoffaufnahme, die nach acht Stunden

praktisch aufhörte; der Druck betrug bei der gleichen Temperatur noch 177 atü. Nach dem Erkalten wurde der Kontakt abgesaugt und das Filtrat fraktioniert destilliert. Nach einem Vorlauf von unverändertem Tetrahydrofurfuralkohol ging das 1,5-*Pentamethylenglykol* konstant bei 130°/14 mm in einer Menge von 270 g = 45% d. Th. über.

2-Oxymethyl-tetrahydropyran (VI). Das für die Hydrierung verwendete dimere Acrolein (V) wurde nach den Angaben von Alder und Rüden[12]) gewonnen. 387 g (3,49 Mol) wurden in 400 ccm Methanol gelöst und, nach dem Versetzen mit genügender Menge Raney-Nickel, bei 100—125° unter einem Wasserstoffdruck von 100—200 atü bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme hydriert. Die Aufarbeitung geschah nach dem Abtrennen des Katalysators durch fraktionierte Destillation. Der Tetrahydropyranalkohol ging bei 70—72°/12 mm als farblose Flüssigkeit über und wurde mit einer Ausbeute von fast 70% d. Th. gewonnen.

Spaltende Hydrierung des 2-Oxymethyl-tetrahydropyrans

252 g Substanz wurden in einem 1 l fassenden, aus V4A-Stahl konstruierten Schüttelautoklaven der Firma Andreas Hofer mit 25 g eines nach Adkins gewonnenen bariumhaltigen Kupferchromit-Katalysators unter einem Wasserstoffanfangsdruck von 170 atü auf 300° erhitzt. Der Druck betrug jetzt 300 atü und begann langsam im Verlauf von 7½ Stunden bis auf 254 atü abzusinken. Nach dieser Zeit wurde abgebrochen und in üblicher Weise aufgearbeitet. Bei der Destillation gingen zunächst etwa 10% d. Th. Hexylalkohol und etwa 25% d. Th. des Tetrahydropyranalkohols als Vorlauf, dann das *1,6-Hexandiol* in einer Ausbeute von etwa 26% d. Th. bei 142°/13 mm als farbloses, bald kristallin erstarrendes Öl über. Nach dem Abpressen auf Ton hatte das Diol den in der Literatur angegebenen Schmp. 42°.

Oxydation des 1,6-Hexandiols zu Adipinsäure

In einem Becherglas wurden 71 g 50proz. Salpetersäure zum Sieden erhitzt und eine kleine Menge des Diols eingetragen. Nachdem die Oxydation in Gang gekommen war, wurde gekühlt und unter gutem Rühren wurden im ganzen 20 g Diol langsam eingetragen; die Temperatur überschritt nicht 55—60°. Nach Beendigung der Reaktion wurde auf 0° abgekühlt und die auskristallisierte Adipinsäure isoliert. Nach dem Umkristallisieren hatte die Säure den richtigen Schmp. von 148° und gab mit käuflicher Adipinsäure keine Depression.

Über die Sandmeyersche Reaktion I

Die Bildung von Phenolen und Halogenbenzolen bei der Zersetzung der Diazoniumhalogenide

Von *E. Pfeil*

Mit 2 Figuren im Text

[Eingelaufen am 6. November 1948]

Es ist bekannt, daß die Diazoniumhalogenide bei der Verkochung in wässriger Lösung neben Phenolen mehr oder weniger große Mengen von Halogenbenzolen liefern[1]). Dabei kann deren Anteil recht beträchtlich

[1]) Crossley, Kienle und Benbroock. Amer. Chem. Soc. 62, 1400 (1940).

werden. So wurde aus Benzol-diazoniumchlorid in starker Salzsäure 40% der theoretischen Ausbeute an Chlorbenzol erhalten[2]); Hantzsch[3]) fand sogar über 50%, wenn er festes Benzol-diazoniumchlorid in der gleichen Gewichtsmenge Wasser zersetzte.

Der Ablauf der Umsetzungen in Wasser wurde von den verschiedenen Beobachtern in unterschiedlicher Weise formuliert. Waters[4]) vertritt die Ansicht, daß die Phenole aus Arylionen entstehen, die primär im Reaktionsknäuel auftreten und sich dann mit dem Wasser umsetzen sollen.

$$\mathrm{Ar{-}N{\equiv}N:} \rightarrow \mathrm{Ar^+} + \mathrm{N_2}$$
$$\mathrm{Ar^+} + \mathrm{OH_2} \rightarrow \mathrm{ArOH} + \mathrm{H^+}$$

Für die Aryljodide schlägt Waters einen Mechanismus vor, bei welchem zwei Jodionen im Spiel sind:

$$\mathrm{Ar{:}N{\equiv}N{:}} + \mathrm{:\ddot{J}:} = \mathrm{Ar\cdot} + \mathrm{N_2} + \mathrm{\cdot\ddot{J}:}$$
$$\mathrm{Ar\cdot} + \mathrm{:\ddot{J}:} = \mathrm{Ar{:}\ddot{J}:}$$
$$\mathrm{Ar{:}\ddot{J}:} + \mathrm{\cdot\ddot{J}:} = \mathrm{Ar{:}J} + \mathrm{:\ddot{J}:}$$

Nach Hodgson kann auch die Bildung der Halogenbenzole über eine primäre Arylionenstufe ablaufen[5]):

$$\mathrm{Ar{-}N{-}N:} \rightarrow \mathrm{Ar^+} + \mathrm{N_2}$$
$$\mathrm{Ar^+} + \mathrm{Cl'} \rightarrow \mathrm{ArCl}$$

Die Phenole sollen dagegen durch Zerfall der Diazohalogenide gebildet werden[6]).

Eistert[7]) betrachtet den wirklichen Reaktionsweg als einen Grenzmechanismus, der zwischen der ionischen und der radikalischen Formulierung liegen soll.

Hantzsch[8]) hatte schon früher die Diazohalogenide als Zwischenprodukte der Arylhalogenid-Synthese betrachtet:

$$\mathrm{Ar{-}N} \quad \mathrm{Ar} \quad \mathrm{\ddot{N}}$$
$$\mathrm{Cl{-}N} \quad \mathrm{\cdot Cl} \quad \mathrm{N}$$

[2]) Gasiorowsky und Wayss, Ber. 18, 337 (1885).
[3]) Ebenda 33, 2527 (1910).
[4]) Chem. Soc. 1942, 266.
[5]) Chem. Soc. 1944, 393; 1945, 819.
[6]) Hodgson und Marsden, Journ. Soc. Dyers Color. 60, 16 (1944); 61, 20 (1945).
[7]) In Holzach: Die aromatischen Diazoverbindungen, 1947, S. 212.
[8]) Ber. 33, 2517 (1900).

Den Weg über die Arylionen lehnt Hantzsch ausdrücklich ab, und zwar mit folgender Begründung: Wenn ein spontaner Zerfall des Diazoniumions möglich wäre, so müßte diese erste Reaktionsstufe zugleich die Geschwindigkeit der Gesamtreaktion bestimmen, da sich in der Folge nur Ionenreaktionen anschließen. Damit müßten alle Diazoniumsalze mit gleichem Kation ungefähr gleich schnell zerfallen bzw. gleichmäßig stabil sein. Das ist erfahrungsgemäß durchaus nicht der Fall; bei gleichem Kation zeigen die Diazoniumsalze teilweise enorme Unterschiede in ihrer Stabilität.

Es ist aus diesem Grunde wahrscheinlich, daß Hantzsch Recht hat und daß alle Zersetzungen der Diazoniumsalze in Umsetzungen mit irgendwelchen Partnern bestehen. Vielleicht müssen hier die Reaktionen unter Lichteinwirkung ausgenommen werden. Die oben genannten Theorien von Waters bzw. Hodgson, welche einen spontanen Zerfall des Diazoniumions zur Grundlage haben, dürften damit wohl nicht der Wirklichkeit entsprechen.

Bekanntlich bilden Phenole und Arylhalogenide den weitaus größten Teil des bei der Verkochung in wäßriger Lösung aus Diazoniumhalogeniden entstehenden Endproduktes. Durch Bestimmung des Phenols, etwa mittels Bromtitration, erfaßt man also als Differenz zu 100 zugleich das Halogenbenzol. Das Titrationsverfahren ist der präparativen Aufarbeitung des Ansatzes an Geschwindigkeit und Genauigkeit überlegen. Ich habe jedoch, um sicher zu sein, einzelne Versuche präparativ aufgearbeitet, um mich zu überzeugen, daß beide Methoden innerhalb der Fehlergrenzen gleiche Resultate ergeben.

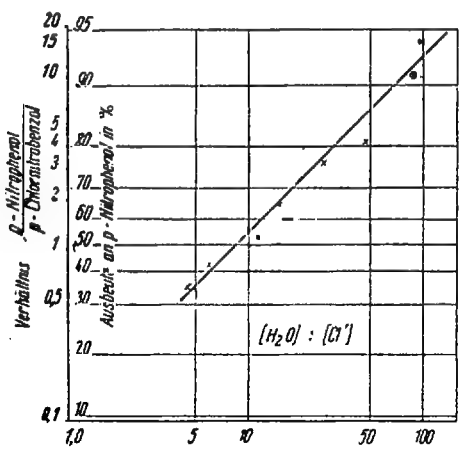


Fig. 1
Die mit ⊙ bezeichneten Punkte sind durch Bestimmung der Abnahme des titrierbaren Cl' gefunden

Alle Messungen wurden mit p-Nitrobenzol-diazoniumchlorid ausgeführt, welches in wäßriger Lösung wechselnden Gehaltes an Salzsäure bei 100° zersetzt wurde. Dabei zeigte es sich zunächst, daß die Ausbeute an Halogenbenzol durch die Salzsäurekonzentration in der Lösung bestimmt wurde. Die Ergebnisse sind in Fig. 1 dargestellt.

Man sieht, daß bei hohen Konzentrationen an Salzsäure die Ausbeuten 60% d. Th. übersteigen können. Die Salzsäure läßt sich

übrigens weitgehend durch neutrale Chloride ersetzen. In der folgenden Versuchsreihe, die in Fig. 2 dargestellt wird, blieb die Chlorionen-Konzentration in Lösung konstant, es wurde aber ein Teil der Salzsäure durch die äquivalente Menge Kaliumchlorid ersetzt, ohne daß eine wesentliche Änderung in der Ausbeute an p-Chlornitrobenzol eingetreten wäre. Wenn sich auch die Reaktion in weitem Maße als unabhängig von der Wasserstoffionen-Konzentration erweist, so scheint doch ein völliger Ersatz der Säure nicht möglich, da — wenigstens im Falle des p-Nitrobenzol-diazoniumchlorids — Nebenreaktionen das Bild der Hauptreaktion verwischen.

Fig. 2 beweist, daß das p-Chlor-nitrobenzol durch Umsetzung mit dem Chlorion gebildet wird. Außerdem folgt noch aus der Unabhängigkeit der Phenolausbeute von der Wasserstoffionen- bzw. Hydroxylionenkonzentration, daß letzteres Ion bei der Bildung des p-Nitrophenols keine Rolle spielt.

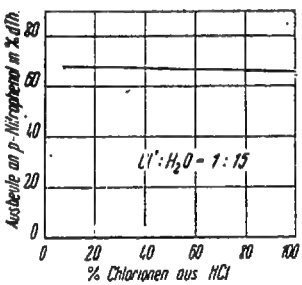


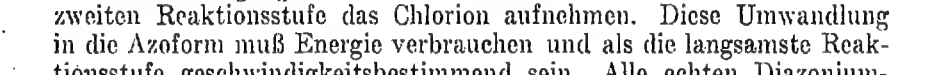
Fig. 2

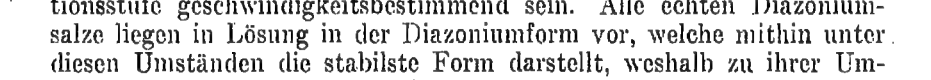
Die Auswertung der Kurve in Fig. 1 ergibt folgendes Bild: die gefundene Gerade entspricht einem Gleichgewicht, d. h. die in einer an sich irreversiblen Reaktion erhaltenen Endausbeuten verhalten sich so zu einander, als ob sie die Reaktionsprodukte eines sich in dynamischem Gleichgewicht befindenden Systems seien. Da es selbstverständlich zwischen den Endprodukten Phenol und Halogenbenzol kein reversibles Gleichgewicht gibt, muß das die Ausbeute bestimmende Gleichgewicht, an welchem Wasser und Chlorion beteiligt sind, am Anfang der Reaktion stehen. Gleichsam als Scheideweg reguliert es die Verteilung der Diazoniumionen zwischen Wasser und Chlorion. Die Einstellung dieses Gleichgewichtes muß sehr schnell vor sich gehen, während die Folgereaktionen vergleichsweise langsam ablaufen und irreversibel sein müssen. Es ist aber wichtig, daß diese Feststellung nur unter der Voraussetzung gültig sein kann, daß allen Messungen nicht die Konzentration der Reaktionsteilnehmer, sondern - wie in der Darstellung der Fig. 1 geschehen - das Verhältnis dieser Konzentrationen zugrunde gelegt wird. Nur unter dieser Voraussetzung bleibt das Massenwirkungsgesetz in Kraft, da sich zwar die Aktivitäten aller Ionen und Moleküle mit ihrer Konzentration ändern, das Verhältnis der Aktivitäten wegen des gleichen Ganges der Veränderung praktisch gleich dem Verhältnis der analytisch bestimmbaren Konzentrationen bleibt.

Am besten erklärt die Vorstellung von Hantzsch alle aufgeworfenen Fragen. Es ist nur notwendig, sie zu erweitern und der heutigen Anschauung anzupassen. Danach muß die Reaktion bei dem völlig hydra-

tisierten Diazoniumion einsetzen. Unter Verdrängung eines Wassermoleküls aus dieser Hydrathülle kann sich ein Halogenion dem Diazoniumion nähern. Die Existenz solcher Komplexe, welche als nicht ionisierte Salzmoleküle anzusprechen sind, dürfte in allen praktisch vorkommenden Verdünnungen als gesichert anzusehen sein. Diese Verdrängung eines Hydratwassermoleküls ist die Stufe, welche als Gleichgewichtsreaktion das Aussehen der Ausbeutekurve bestimmt. Sie verläuft sicherlich mit hoher Geschwindigkeit, so daß die Einstellung des Gleichgewichtes genügend rasch erfolgt.

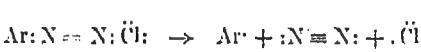
Unter Übergang in die Azoform kann das Diazoniumion in der zweiten Reaktionsstufe das Chlorion aufnehmen. Diese Umwandlung in die Azoform muß Energie verbrauchen und als die langsamste Reaktionsstufe geschwindigkeitsbestimmend sein. Alle echten Diazoniumsalze liegen in Lösung in der Diazoniumform vor, welche mithin unter diesen Umständen die stabilste Form darstellt, weshalb zu ihrer Umwandlung zunächst Energieaufwand benötigt wird.



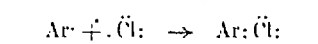


Wenn man mit Hantzsch annimmt, daß das Diazoniumion als solches stabil ist, so bedeutet dieses, daß der Stickstoff die zu seiner Entwicklung notwendigen beiden Elektronen nicht zusammen vom Kohlenstoff ablösen kann. Wenn es ihm im Laufe einer Reaktion trotzdem gelingt, sich vom Kohlenstoff zu trennen, so muß er die benötigten Elektronen von Stellen entnommen haben, von denen sie leichter abzulösen sind. Selbstverständlich muß der Ablösung von Elektronen eine Annäherung der Reaktionspartner auf atomare Dimensionen vorausgehen. Beides ist bei den Diazohalogeniden der Fall. Sie sind deshalb auch nur dort stabil, wo der eintretende Rest festgebundene Elektronen enthält.

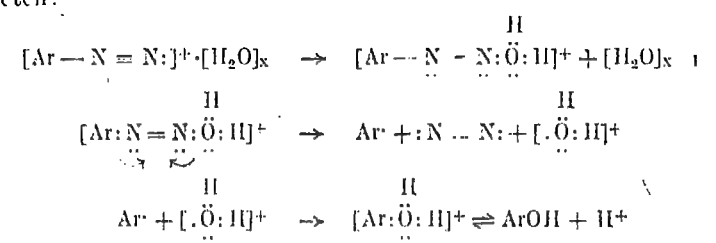
Der durch Eintritt von Halogen gebildete Komplex zerfällt daher bald unter Entwicklung von Stickstoff.



Wahrscheinlich stammt eins der dazu benötigten Elektronen vom Kohlenstoff des Benzolringes und eins vom Halogen. Die so entstehenden Radikale sind nicht frei zu denken, sondern bleiben innerhalb der Dimensionen der molekularen Anziehung. Sie vereinigen sich sofort zu Halogenbenzol.

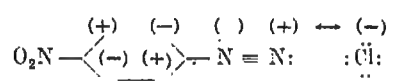


In grundsätzlich dem gleichen Mechanismus kann bei Abwesenheit von anderen Ionen in der Hydrathülle auch Wasser in das Diazoniumion eintreten:



Der Eintritt in das Diazoniumion deformiert auch die Elektronenhülle des eintretenden Atoms. Es muß also auch auf dieser Seite Arbeit geleistet werden. Der Eintritt gelingt deshalb um so leichter, je deformierbarer das aufgenommene Teilchen ist. Deshalb reagieren die Halogene leichter mit steigendem Atomgewicht. Wasser reagiert an sich wesentlich langsamer als Chlorion mit p-Nitrobenzol-diazoniumion, wie man aus Fig. 1 entnehmen kann. Es werden nämlich in der Endausbeute gleiche Teile Phenol und Halogenbenzol gebildet, wenn in der Lösung auf 8 Wassermoleküle 1 Chlorion enthalten ist. Nur der erhebliche molekulare Überschuß, in dem sich Wasser wegen seines kleinen Molekulargewichtes befindet, bewirkt in den meisten Fällen ein Überwiegen der Phenolbildung.

Substituenten im Benzolkern, die wie $-NO_2$ oder -Cl die Umwandlung der Diazoniumform in die Azoform begünstigen, erleichtern die Reaktion mit dem Halogenion auch dadurch, daß sie das tertiäre Stickstoffatom der Diazoniumgruppe durch Induktion weniger stark negativ geladen erscheinen lassen.



Ebenso wie Wasser oder Halogenion können andere Gruppen mit genügend lockeren Elektronen in das Diazoniumion eintreten. Es besteht die Möglichkeit, daß auch die Einwirkung der Alkohole, Äther und anderer Verbindungen auf Diazoniumsalze vielleicht dem gleichen Schema gehorcht, wie es oben für Wasser entwickelt wurde.

Bildung der Diazoharze. Wie man aus Fig. 1 ersieht, fallen die durch Phenolbestimmung gefundenen Werte bei geringen Säuregraden aus der Kurve heraus. Diejenigen Punkte jedoch, welche durch direkte Messung der Abnahme des titrierbaren Chlorgehaltes gefunden wurden, zeigen unverändert die richtigen Werte. Daraus muß geschlossen werden, daß eine Nebenreaktion gleichzeitig auf Kosten des Phenols oder aber der Phenolreaktion abläuft, welche die Bildung von Halogenbenzol nicht beeinträchtigt. Es kann dies nach Lage der Dinge nur die Bildung der Diazoharze sein, welche mit abnehmendem Säuregrad der Lösung immer stärker wird.

Versuchsteil

1. Zersetzung von p-Nitrobenzol-diazonium-chlorid in wäßriger Lösung

Bei allen Zersetzungen wurde folgender allgemeiner Ansatz verwendet:

3,5 g p-Nitranilin werden in Salzsäure gelöst und je nach der gewünschten Endkonzentration mit Wasser oder Salzsäure in einen dickwandigen Erlenmeyerkolben gespült. Die berechnete Menge Natriumnitrit wiegt man auf einem Rundfilter ab, knüllt das Papier zusammen und steckt es locker in den Hals des schräg gelegten Kolbens, ohne daß das Nitrit mit der Lösung des Amins in Berührung kommt. Danach wird der Kolben mit einem gut sitzenden Gummistopfen verschlossen und das Nitrit durch kräftiges Schütteln in die Lösung gebracht. Die anfangs entwickelten nitrosen Gase verschwinden bald wieder; in diesem Zeitpunkt ist die Diazotierung beendet. Die Ausbeuten bewegen sich, wie durch Bestimmung des durch CuCl abspaltbaren Stickstoffs bestätigt wurde, zwischen 95 und 98% d. Th. Unter schwierigen Bedingungen, sehr hohe oder sehr geringe Säuregehalte, sinken die Ausbeuten etwas ab. Das Verfahren ist außerordentlich bequem, wenn man schnell kleinere Mengen Diazoniumlösung herstellen will.

Nach Beendigung der Reaktion wurde auf deren vollständigen Verlauf mit KJ-Stärkepapier geprüft, von den Filterfasern abfiltriert und je nach der gewünschten Konzentration mit der berechneten Menge Wasser oder Salzsäure auf 100 cm^3 aufgefüllt. Der Gehalt der Lösung wurde durch Zersetzung mit Kupfer-(I)-chloridlösung bestimmt. Das Verfahren ist im Falle negativierender Substitution des Benzolkerns brauchbar, da die Stickstoffverluste durch Bildung von Azokörpern nicht ins Gewicht fallen. Durch Titration nach Volhard wurde der Gehalt der Lösung an Halogen bestimmt und das spezifische Gewicht durch das Gesamtgewicht der 100 ccm festgelegt. Je 5 ccm dieser Lösung — im allgemeinen wurden 5—6 Parallelansätze geführt — bringt man in Reagenzgläser 20×2 cm, setzt einen Gummistopfen mit zweimal rechtwinklig abgebogenem Ableitungsrohr auf, welches zur Vermeidung von Verlusten an Salzsäure ein kleines mit Wasser gefülltes Reagenzglas als Vorlage erhält.

Nur bei den stärksten Säurekonzentrationen konnte in der Vorlage Salzsäure nachgewiesen werden, deren Menge durch Titration mit Lauge bestimmt und zur Hälfte von der in Lösung gefundenen Konzentration abgezogen wurde. Nitrophenol ging niemals in nachweisbarer Menge über. Die so vorbereiteten Röhrchen wurden darauf in ein lebhaft siedendes Wasserbad eingetaucht, zusammen mit einer unverstopften, aber sonst gleich beschickten Kontrolle. Wenn durch Kupplung mit alkalischer β-Naphthollösung in der Kontrolle kein Diazoniumsalz mehr nachzuweisen war, wurde der Versuch nach weiteren 5 Minuten beendet.

Die Bestimmung des entstandenen Phenols geschah durch die übliche Brommethode. Als kein Jodid mehr zur Verfügung stand, wurde das Verfahren dahingehend abgeändert, daß der Bromüberschuß durch Zugabe von 1/10 n-Arsenitlösung aufgenommen und der nicht verbrauchte Anteil des Arsenits durch Titration mit n/10-Bromid-Bromatlösung in der Wärme bestimmt wurde. (Indikator Methylrot.) Das Verfahren hat den Vorteil, auch in Gegenwart von Eisen-(III)- und Kupfer-(II)-salzen brauchbar zu sein. Bei der Reaktion entstehen immer geringe Mengen Harze, welche aber zum größten Teil beim Kochen mit starker Lauge in Lösung gehen und Brom verbrauchen. Sie wurden daher als Phenol mitbestimmt. Auf jeden Fall muß wiederholt mit 30-proz. Lauge gekocht werden, um alle titrierbare Substanz aufzuschließen.

Das für die Ausbeute wichtige Verhältnis von Halogenionen zu Wasser wurde rechnerisch bestimmt, indem vom Gesamtgewicht der Lösung das Gewicht der darin befindlichen Diazoniumionen, Natriumionen und Chlorionen abgezogen wurde.

Einzelne Punkte wurden durch präparative Aufarbeitung des doppelten Ansatzes erhärtet, wobei sich die titrimetrische Methode als überlegen erwies.

Bei geringen Gehalten an Chlorionen konnte die Ausbeute an Halogenid direkt aus der Menge des verschwundenen titrierbaren Halogens bestimmt werden, da durch starke Harzbildung die Phenolausbeute stark abgesunken war.
Diese Werte sind besonders gekennzeichnet.

Chlorionen / Wasser	% Ausbeute an Phenol	Bemerkungen
1 : 4,5	37	Bromtitrat.
1 : 6	45	,,
1 : 10	57	,,
1 : 11	55	,,
1 : 15	65	,,
1 : 27	76	,,
1 : 47	81	,,
1 : 80	85	,,
1 : 90	82	,,
1 : 90	91	Bestg. des
1 : 100	94	Verlustes an Cl'

Zersetzung in Kaliumchloridlösung

Versuchsanordnung wie vorher, Bestimmung der Ausbeute durch Phenoltitration. Verhältnis von Chlorion zu Wasser in allen Versuchen wie 1 : 15.

Prozentualer Anteil der Chlorionen aus Salzsäure	Ausbeute an Phenol	Bemerkungen
100 %	65%	kein Harz
43,5%	67%	wenig Harz
8 %	68%	wenig Harz

Über die Unterbrechung des Citronensäure-Cyklus durch Fluoressigsäure

Von *Carl Martius*

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen)

[Eingelaufen am 23. Oktober 1948[1]]

Vor einiger Zeit berichteten amerikanische[2,3]) und englische Autoren[4]) auf Grund von Untersuchungen, die während des Krieges durchgeführt worden waren, über die Giftigkeit der Fluoressigsäure und

[1]) Nach einem Vortrag vor der Chemischen Gesellschaft in München am 18.6.48.
[2]) G. R. Bartlett, E. S. G. Barron, Journ. biol. Chem. **169**, 67 (1947).
[3]) G. Kalnitzky, E. S. G. Barron, Journ. biol. Chem. **169**, 83 (1947).
[4]) B. C. Saunders, Nature **1947** S. 179. Dort weitere Literaturangaben.

homologer ω-fluorierter Fettsäuren sowie über deren Einfluß auf den Stoffwechsel tierischer Gewebe, von Hefe und von Bakterien. Das Erstaunliche an der von Ihnen gefundenen starken Wirksamkeit der Fluoressigsäure als Stoffwechselgift — die Wirkung der höheren fluorierten Fettsäuren wird auf die Bildung von Fluoressigsäure bei deren Abbau zurückgeführt — ist, daß sie einem einfachen und im Gegensatz zu den anderen Halogenessigsäuren sehr reaktionsträgen Molekül zukommt, das selbst mit Sulfhydrylgruppen kaum in Reaktion zu bringen ist. In ihren Untersuchungen über den Reaktionsmechanismus der Fluoracetat-Wirkung in vivo und in vitro kommen Bartlett und Barron zu dem Schluß, daß diese durch Hemmung des oxydativen Abbaus der Essigsäure zustande käme, da sich in ihren Versuchen mit tierischen Geweben sowie mit Hefe der Abbau der Essigsäure, und zwar sowohl zugesetzter wie aus Pyruvat oder Fettsäuren gebildeter stets als zu nahezu 100 % gehemmt erwies. Aus der Tatsache, daß keines der einzelnen untersuchten Teilenzyme des Citronensäurecyklus sich durch Fluoressigsäure hemmen ließ, hatten sie geschlossen, daß der Angriffspunkt der Fluoressigsäure nicht auf diesem Abbauweg liegen könne, sondern durch kompetitive Hemmung der Umsatz der Essigsäure direkt betroffen werde. Sie hatten daher weiter gefolgert, daß beim Abbau der Essigsäure und somit auch der Brenztraubensäure und der Fettsäuren in Anbetracht der starken mit Fluoressigsäure erzielbaren Hemmung der Citronensäurecyklus nur eine untergeordnete Rolle spielen könne.

Eine solche im Widerspruch mit wesentlichen im Laufe der letzten Jahre gewonnenen Erkenntnissen über den Verlauf des aeroben Stoffwechsels stehende Behauptung hätte, falls sie zuträfe, zu einer Umwälzung bisher als gültig angesehener Anschauungen über die Rolle der Citronensäure wie der Essigsäure führen müssen.

Eine Nachprüfung der Versuche führte indessen zu einer anderen Auffassung vom Wesen der Fluoracetatwirkung.

Tab. 1

A. Je Ansatz 5 g Herzmuskelbrei (Rind), 25 mg Citronensäure. 1,1% $NaHCO_3$. Flüssigkeitsvolumen: 16 ml. 120 Min. unter O_2 geschüttelt

Fluoracetat	Citronensäure: Wiedergefunden	Kontrolle
0.04 m	26,5; 26,6 mg	0,8; 1,0 mg
0,01 m	29,0 mg	7,0 mg
0,001 m	28,75 mg	6.5 mg

B. 0,04 m Fluoracetat	0,001 m As_2O_3	0,04 m F.acetat + 0,001 m As_2O_3	Kontrolle
23.6; 23,7 mg	6,4; -- mg	7,7; 8,8 mg	5,4; 9.5 mg

Wie Tab. 1 zeigt, verhindert 0,001 m—0,04 m Fluoressigsäure den Abbau von Citronensäure durch Herzmuskelbrei über das Maß von etwa 10% hinaus, welches auf Rechnung der durch Umlagerung gebildeten cis-Aconitsäure und Isocitronensäure kommt, bzw. es findet sogar auf Kosten zelleigener Ausgangsstoffe eine leichte Vermehrung der Citronensäure statt. Da die Umwandlung Citronensäure—cis-Aconitsäure—Isocitronensäure durch Fluoressigsäure nicht beeinflußt wird, wie besondere Versuche zeigten, muß die Isocitricodehydrase selbst durch die Vergiftung ausgeschaltet worden sein. Nach den Versuchen von Bartlett und Barron[2]) wird die isolierte Dehydrase aber durch Fluoressigsäure nicht gehemmt. Eine Lösung dieses offenbaren Widerspruches ergibt sich, wenn man annimmt, daß in den Versuchen mit Gewebe die als solche wahrscheinlich gänzlich ungiftige Fluoressigsäure erst in das eigentliche Enzymgift umgewandelt wird, das Eintreten der Giftwirkung somit an intakte Zellen oder Zellstrukturen gebunden ist. Obwohl der direkte, d. h. präparative Nachweis dieses Stoffes bisher noch nicht geführt werden konnte, glaube ich mit Bestimmtheit sagen zu können, daß es sich bei diesem um eine *Fluorcitronensäure* (oder Isocitronensäure) handelt, über deren Entstehung folgendes angenommen werden kann: Die Kleinheit und Reaktionsträgheit des Fluoratoms bedingt eine ziemlich große Ähnlichkeit der Moleküle der Essigsäure und Fluoressigsäure. Diese führt nun aber nicht, wie Bartlett und Barron annahmen, zu einer kompetitiven Hemmung des Essigsäureabbaus, sondern zu einer Konkurrenz beider Säuren in dem Sinne, daß sie beide in gleicher Weise in den Stoffwechsel einbezogen werden, d. h. über die vermutliche Zwischenstufe einer Acet- bzw. Fluoracet-essigsäure in Citronensäure bzw. Fluorcitronensäure übergehen. Letztere bewirkt dann eine kompetitive Hemmung an der Isocitricodehydrase, was bei der Festigkeit der Ferment-Substrat-Bindung gerade dieses Enzymes offenbar schon bei sehr niedrigen Giftkonzentrationen möglich ist.

Beweisend für diese Auffassung scheinen mir die unter B in Tab. 1 angeführten Versuche zu sein, bei denen das Citronensäure bildende Fermentsystem durch einen Zusatz von arseniger Säure ausgeschaltet wurde. Unter diesen Umständen kann auch keine Fluorcitronensäure gebildet werden, und der Abbau der Citronensäure muß auch in den durch Fluoracetat vergifteten Ansätzen ungehemmt stattfinden können, wie die Versuche in der Tat ergeben.

Mit der Blockierung des Citratabbaus durch intermediär gebildete Fluorcitronensäure lassen sich nun, wenn man den Citronensäurecyclus als Hauptweg des aeroben Brenztraubensäure- und Fettsäureabbaus zu Grunde legt sämtliche von Barron, Bartlett und Kalnitzki an tierischem Gewebe und Hefe gemachten Befunde einwandfrei erklären. Wenn die im Gewebe vorhandenen C_4-Dicarbonsäuren in Form von Fluorcitronensäure und Citronensäure festgelegt sind, muß wegen Mangels an diesen für den Ablauf des Citronensäurecyclus und damit

für die Gewebsatmung unbedingt erforderlichen Substanzen der weitere Abbau der Brenztraubensäure und der Fettsäuren sistieren. Daß sich dabei aus Brenztraubensäure in größerem Umfang Essigsäure bildet, beweist an sich noch nicht, daß der Pyruvatabbau obligat über Essigsäure verläuft, sondern besagt nur, daß diese in tierischem Gewebe sonst wohl nur einen Nebenweg darstellende Reaktion zur allein noch nachweisbaren Umsetzung werden kann, wenn der normale Abbauweg versperrt ist. Andererseits stellt der Nachweis der Bildung von Fluorcitronensäure aus Fluoressigsäure einen neuen Beweis dafür dar, daß auch Essigsäure im Tierkörper in Citronensäure übergeht und ihr Abbau somit über den Citronensäurecyclus führt.

Auch der von Barron und Mitarbeitern erhobene Befund, daß Acetylierungsprozesse durch Fluoressigsäure nicht gehemmt werden, findet nunmehr seine einfache Erklärung. Durch die Hemmung des aeroben Pyruvat- und Acetat-Abbaus scheinen sie sogar begünstigt zu werden, worauf neben dem Befund, daß in mit Fluoressigsäure vergiftetem Gehirnbrei vermehrt Acetylcholin gebildet wird[2]), auch Beobachtungen in vivo an Tieren zu sprechen scheinen, bei denen man im Stadium der Vergiftung fibrilläre Muskelzuckungen (beim Frosch) oder verstärkte Darmperistaltik (bei der Ratte) beobachtet.

Neben der Wirkung auf den Citratabbau läßt sich schließlich auch noch eine gewisse direkte Wirkung auf die Citronensäure-Synthese feststellen. Bei kurzer Reaktionsdauer und gleichzeitiger Zugabe von Fluoressigsäure und den zur Citronensäure-Synthese nötigen Komponenten kommt es stets zu einer Erhöhung der Ausbeute an Citronensäure, d. h. bei nichtbeeinflußter Synthese wird der Abbau gehemmt. Die dann erhaltenen Werte stellen somit das wahre Maß der Ausbeute an Citronensäure dar, das ohne Fluoressigsäure wegen des ja stets neben der Synthese einhergehenden Abbaus nie erreicht werden kann. Es liegt bis zu $^1/_3$ über dem Wert ohne Fluoracetat. Schüttelt man jedoch schon vor Zugabe des Citronensäure bildenden Säurepaares zunächst 60′ nur mit Fluoressigsäure, sind dann Hemmungen der Citronensäuresynthese zu beobachten, die in der Regel mit Fumar- oder Bernsteinsäure als Ausgangsmaterial größer sind als mit Oxalessigsäure und darauf schließen lassen, daß dann eine Hemmung auch der Reaktionen eintritt, die von der Bernstein- bzw. Fumarsäure bis zur Oxalessigsäure führen und vielleicht die Malicodehydrase betreffen.

Wirkung von Fluoracetat auf die Citronensäuresynthese

Je 5 g Herzmuskelbrei (Rind) wurden in 100 ml Erlenmeyern nach Zusatz der Substrate (0,02 m-Brenztraubensäure + 0,02 m-Dicarbonsäure als Na-Salze) 30 Min. unter O_2 bei 37° geschüttelt. Medium 1,1% NaHCO, ph = 8,1. Volumen ohne Gewebe = 25 ml. Bei den Versuchen unter A wurde das Fluoracetat gleichzeitig mit den Citronensäurebildnern zugesetzt, bei den Versuchen unter B wurde zunächst 60 Min. nur mit Fluoracetat bzw. die Kontrolle ohne Zusatz unter O_2 geschüttelt.

Tab. 2

Fluoracetat	Dicarbonsäure	mg Citronensäure	Kontrolle	%
A. 0,033 m	Oxalessigsäure	43,65	37,95	+11,6
0,033 „	Fumarsäure	38,4	31,0	+12,4
0,02 „	Oxalessigsäure	37,8	31,1	+21,5
0,02 „	Fumarsäure	34,5	32,0	— 8
B. 0,02 „	Oxalessigsäure	14,76	11,5	+28
0,02 „	Fumarsäure	9,45	13,76	—31
0,02 „	Bernsteinsäure	9,36	10,0	— 6,8
0,033 „	Oxalessigsäure	9,4	10,3	— 6
0,033 „	Äpfelsäure	8,26	10,77	—23,5
0,033 „	Fumarsäure	7,0	11,7	—40
0,033 „	Bernsteinsäure	6,0	8,7	- 31
C. Ansatz wie unter A.				
0,01 m Fluorbernsteinsäure	Oxalessigsäure	16,0	17,4	
	Fumarsäure	12,2	12,0	
0,01 m Fluorfumarsäure	Oxalessigsäure	13,7	41,0	
	Fumarsäure	6,1	16,6	

Da diese Versuche sich jedoch mit verschiedenem Gewebsmaterial nicht immer im gleichen Umfange reproduzieren ließen, bleibt es wohl dahingestellt, ob es sich bei diesem Effekt um eine spezifische Wirkung handelt oder nicht, vielmehr Gewebsschädigungen allgemeinerer Art als Folge der gehemmten Atmung dem zu Grunde liegen. Eine dritte Möglichkeit schließlich, daß ein weiterer Abbau der Fluorcitronensäure zu fluorierten Dicarbonsäuren erfolgt, die dann ihrerseits neuartige Hemmungseffekte ergeben, erscheint auch nicht sehr wahrscheinlich, da 0,01 m Monofluorbernsteinsäure gar keinen, 0,01 m Monofluorfumarsäure[5]) auch nur einen mittleren Effekt auf die Bildung von Citronensäure aus Oxalessigsäure oder Fumarsäure ausüben, trotzdem die angewandten Konzentrationen der Hemmstoffe hier sicherlich sehr viel höher liegen, als die ev. gebildeter fluorierter Dicarbonsäuren in den Ansätzen mit Fluoressigsäure.

Es liegt somit aller Grund zur Annahme vor, daß der Effekt der Fluoressigsäure auf den Stoffwechsel im wesentlichen durch die Hemmung des Citratabbaus zu erklären ist und wir in dieser Substanz ein neuartiges Enzymgift mit ganz spezifischer Wirkung vor uns haben. *Dieser Befund im Verein mit den von* Barron *und Mitarbeitern gemachten Beobachtungen beweist somit auf's neue die zentrale Rolle der Citronensäure im intermediären Stoffwechsel.*

Von besonderer Bedeutung erscheint die Tatsache, daß mit der Fluoressigsäure ein Enzymgift gegeben ist, das vor anderen ähnlich wirkenden wie der Malonsäure den Vorteil voraus hat, daß sie als ein-

[5]) Für die Überlassung von Proben dieser Säuren spreche ich Herrn Prof. Theilacker meinen besten Dank aus.

wertiges Ion auch durch schwer permeable Membranen leicht diffundiert. Die Angaben von Bartlett und Barron, daß bereits mit 0,001m Fluoracetat deutlich Hemmungen des Wachstums von Pflanzenkeimlingen zu beobachten sind, deutet eine Anwendungsmöglichkeit an. Weitere dürften sich bei der Untersuchung des Stoffwechsels von Bakterien ergeben, bei denen die Beteiligung des Citronensäurecyclus bisher ja noch wenig geklärt ist. Eine Voraussetzung für die Anwendung der Fluoressigsäure muß freilich in allen Fällen gegeben sein: Ein leistungsfähiges Enzymsystem für die Überführung von (Fluor-) Essigsäure in (Fluor-) Citronensäure. Wo ein solches nicht gegeben ist, kann auch keine Wirkung der Fluoressigsäure auf den Citratabbau erwartet werden.

Dem Universitätsbund Tübingen spreche ich für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit meinen ergebensten Dank aus. Herrn Dr. Jonas, Leverkusen, danke ich für die Überlassung von Fluoressigsäure.

Zur manometrischen Bestimmungsmethode der Pektase

Von *Friedrich Kiermeier*

(Aus dem Institut für Lebensmitteltechnologie, München)

Mit 4 Figuren im Text

[Eingelaufen am 6. Oktober 1948]

Die demethoxylierende Wirkung der Pektase und die dabei auftretende Gelierung macht sich in pflanzlichen Säften bei längerer Lagerzeit bemerkbar, obwohl nur geringe Mengen des Fermentes vorhanden sind. Diese sind mit den üblichen Methoden, die entweder auf eine alkalimetrische Titration der freiwerdenden Carboxylgruppen oder auf einer Erfassung der Methoxylgruppen beruhen[1]), nicht oder nur sehr umständlich erfaßbar, vor allem wenn auf Grund technischer Einflüsse bereits eine teilweise Inaktivierung des Fermentes eingetreten ist. Es lag nun nahe, die bei anderen Esterasen bewährte Methode von Rona und Lasnitzky[2]) und die neuerdings für Lezithinasen von Zamecnik, Brewster u. Lipmann vorgeschlagene Arbeitsweise[3]) auch für die Charakterisierung der Pektase-Wirkung heranzuziehen. Hier wie da kann die bei der Esterspaltung freiwerdende Säure durch die äquivalente Menge CO_2, die aus einer Bikarbonatlösung freigemacht wird, manometrisch nach der Methode von O. Warburg erfaßt werden.

[1]) Zusammenfassende Literatur: Phaff, H. J. u. M. A. Joslyn. Wallerstein Lab. Comm., **10** (1947), 133–148.

[2]) Bio. Z. **152**, 504 (1924).

[3]) J. of Exp. Med. **85**, 381–394 (1947).

Die von E. Bamann[4]) geäußerten Bedenken, daß Lipasen in bikarbonatgepuffertem Milieu nicht ihre volle Wirksamkeit entfalten, könnten auch für die Pektase zutreffen. Obwohl ein Vergleich der vorgeschlagenen Methode mit der von Mac Donnell, Jansen u. Lineweaver[5]) keine Differenzen bei dem verwendeten Enzymmaterial zeigte, wird es doch für günstiger gehalten, die Beobachtung nur auf die Anfangsgeschwindigkeit zu beschränken, so lange $\left(\frac{dx}{dt}\right)$ noch konstant ist und weil dadurch die Eigenhydrolyse noch keine meßbaren Werte annimmt. Durch den außerordentlich verschiedenen Gehalt der Pektine an Methoxylgruppen entsteht die besondere Schwierigkeit, daß kein standardisiertes Substrat für die Enzymwirkung vorliegt; denn selbst die Vorschrift, daß der Gehalt an Methoxylgruppen[5]) mindest 8—11% betragen soll, schließt die Möglichkeit einer Reaktionsbeeinflussung durch die Eigenart des Substrates nicht aus, was für die Einheitlichkeit der Bewertung der Fermentwirkung abträglich ist. Allerdings scheint dadurch ein Einblick in die hochpolymeren Verhältnisse der Pektinstoffe und in die „Wertigkeit" ihrer Methyloxylgruppen gestattet zu sein. Die vorliegende Methode eröffnet uns die Möglichkeit, da für jeden Versuch nur 10 mg Substrat erforderlich ist, einen synthetischen Methylester der Galakturonsäure als Substrat heranzuziehen.

Versuchsteil

1. Arbeitsweise

Zu 2 ccm einer Lösung, die 0,5proz. an Pektin, $^1/_{10}$—$^1/_{100}$ molar an $NaHCO_3$ und 0,15 molar an NaCl ist, gibt man nach Temperaturausgleich 0,5 ccm der zu untersuchenden Pektase-Lösung, die gleiche Konzentration an $NaHCO_3$ und NaCl wie die Substratlösung aufweisen soll. Beide Lösungen sollen vorher mit CO_2 gesättigt sein (Substratlösung: 30 Min.), wobei die jeweilige Konzentration durch den gewünschten p_H-Wert bedingt ist. Reaktionstemperatur 30°. Das freigemachte CO_2 wird nach der manometrischen Methode von Warburg[6]) erfaßt, solange $\frac{dx}{dt}$ noch konstant ist. Als Maß der Aktivität wird der Winkelkoeffizient der Geraden betrachtet, wobei es besonders vorteilhaft ist, die Winkelkoeffizienten für die einzelnen Zeitabschnitte nach der graphischen Methode von Lode[7]) auszugleichen. Entsprechend den Vorschlägen von McDonnell, Jansen und Lineweaver[5]) liegt dann eine Pektase-Einheit vor, wenn die Fermentmenge 1 Milli-Äquivalent Ester in 1 Min. bei 30° und optimalem p_H hydrolysiert (1 ccm CO_2 entspricht $0{,}449 \cdot 10^{-4}$ mval.). In einem Vergleich beider Methoden ergab sich praktisch Übereinstimmung:

alte Methode[5]): $2{,}3 \cdot 10^{-2}$ PE—E
neue Methode : $2{,}2 \cdot 10^{-2}$ PE—E.

---

[4]) Bamann, E. u. K. Myrbäck, Die Methoden der Fermentforschung, 2. Bd., S. 1559 (1941), Leipzig.

[5]) Arch. of Biochem. **6**, 389—401 (1945).

[6]) Dickens, Fr. „Die manometrische Methode" in Bamann-Myrbäck, „Die Methoden der Fermentforschung", 1. Bd., S. 985—1022 (Leipzig 1941).

[7]) VDI-Ztschr. **90**, 89—90 (1948).

2. p_H-Einstellung

Während die titrimetrische Verfolgung im ungepufferten Milieu[5]) vor sich geht, ermöglicht der $NaHCO_3$-CO_2-Puffer ein Konstanthalten der Reaktionsbedingungen. Selbst bei einer Entwicklung von 100 cmm CO_2 wird unter den angegebenen Reaktionsverhältnissen das p_H nicht verschoben. Nur bei Verwendung von n/100-$NaHCO_3$-Lösungen wird die Einstellung etwas unsicher (vgl. Fig. 1). Besonders günstig scheint die Einstellung des p_H-Wertes mit m/25-Lösungen.

Entsprechend der Natur des Puffersystems sind nur p_H-Werte von 6,0 bis gegen 9,0 verfügbar, die in verschiedener Weise, wie Fig. 1 zeigt, eingestellt werden können.

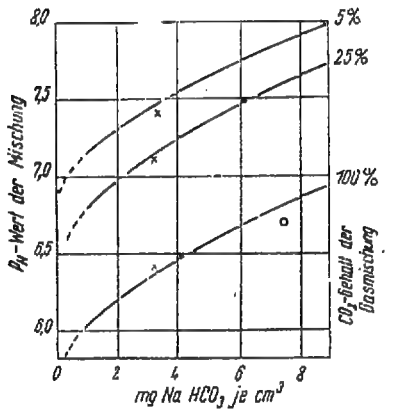


Fig. 1 Abhängigkeit des p_H-Wertes von $NaHCO_3$-Gehalt und CO_2-Conc. (x: p_H-Werte einer fertigen Mischung, die 0,15 molar an NaCl und 0,375proz. an Pektin war. o: der errechnete p_H-Wert[3])).

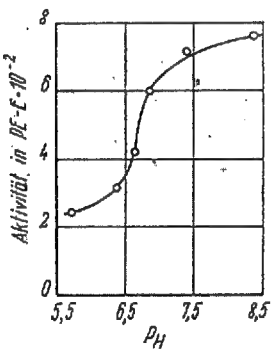


Fig. 2. p_H-Einstellung mit einem $NaHCO_3$-CO_2-Puffer.

Es ist vorteilhaft, sich nicht allein auf die Angaben von Hastings und Sendroy[3]) bei der Zusammenstellung des $NaHCO_3$-CO_2-Puffers zu stützen, sondern diese in der fertigen Mischung nachzuprüfen, weil geringe Verschiebungen durch den meist bei 3 liegenden p_H-Wert der Pektine zu beobachten sind (vgl. Fig. 1). Die Substratlösung behielt den einmal eingestellten p_H-Wert über mehrere Tage. Es ist jedoch anzuraten, die Mischung nicht auf Vorrat zu halten, sondern die Einzellösungen in doppelter Konzentration vor Versuchsbeginn zu gleichen Teilen zu mischen. Wie Fig. 2 zeigt, ist durchaus eine zufriedenstellende p_H-Einstellung zu erreichen, so daß die übliche p_H-Aktivitätskurve bestimmt werden kann, was in Einklang mit den Erfahrungen von Zamecnik u. Mitarb.[3]) steht.

3. Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Enzymkonzentration.

Die Reaktionsgeschwindigkeit, ausgedrückt in Pektase-Einheiten, ist der Enzymkonzentration proportional (Fig. 3). Daraus kann gefolgert werden, daß die Milieuänderungen unter den Versuchsbedingungen

[3]) J. Biol. Chem. **65**, 445 (1925).

sehr gering sind und daß offenbar eine Inaktivierung des Enzyms im $NaHCO_3$-Puffer im Anfang der Reaktion nicht eintritt.

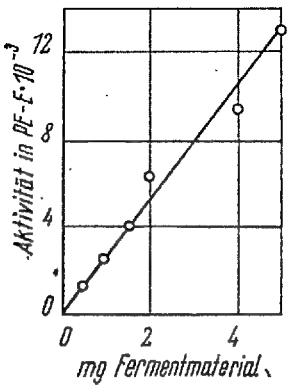


Fig. 3. Beziehung der Enzymmenge zur Enzymaktivität.

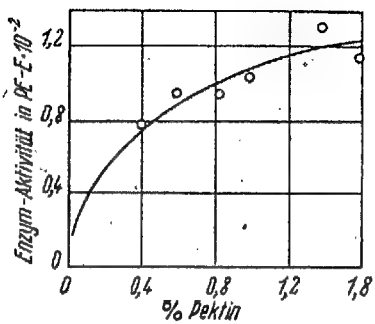


Fig. 4. Einfluß der Substratkonz. auf die Reaktionsgeschwindigkeit (Reaktionszeit 60 Min.; Temp. 30°)

4. Der Einfluß der Substratkonzentration

Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratmenge ist außerordentlich groß (Fig. 4), vor allem in Hinblick darauf, daß die an sich geeigneten höheren Pektinkonzentrationen während der Messung gelieren und dadurch die notwendige Bewegung des Reaktionsansatzes im Warburg-Gefäß unterbinden.

Der von H. Deuel und F. Weber[9]) vorgeschlagene Zusatz von Pyridin und Natriumoxalat vermag zwar die Gelierung zu unterdrücken und beeinflußt die Reaktionsgeschwindigkeit nicht, jedoch muß auch das Fermentmaterial Ca-frei gemacht werden, was für Reihenuntersuchungen sehr hinderlich ist; und weiterhin macht sich der Dampfdruck des Pyridins im Manometer bemerkbar. Der Substrateinfluß kann weitgehend ausgeschaltet werden, wenn lediglich die Anfangsgeschwindigkeiten betrachtet werden, dann war bei verschiedenen Pektinen die Fermentaktivität unabhängig von der Konzentration (z. B. Rübenpektin I: Konz. 0,4—1,6%; $K \cdot 10^{-2} = 2{,}16 \pm 0{,}16$[10]). Selbst bei gut gelierenden Pektinen konnte die Konzentration ohne merklichen Einfluß auf die Reaktionsgeschwindigkeit des Enzyms variiert werden (z. B. Apfelpektin II: Konz. 0,05—0,3%, $K \cdot 10^{-2} = 1{,}34 \pm 0{,}20$; Rübenpektin II: Konz. 0,05—0,3%; $K \cdot 10^{-2} = 0{,}69 \pm 0{,}11$).

5. Der Einfluß der Substratbeschaffenheit

Weiterhin kann der störende Geliereffekt bei hohen Substratkonzentrationen dadurch ausgeschaltet werden, daß die Pektinlösungen zunächst mit Pektinase (Filtragol) versetzt, dann diese durch Aufkochen inaktiviert und die so gewonnene niedermolekulare Pektinlösung nach

[9]) Helv. 28, 1088—1110 (1945).

[10]) ± 0,16 bedeutet den Streuungsbereich; vgl. S. Koller, Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen (Dresden 1943), S. 36/7.

der Arbeitsvorschrift weiter verwendet werden. Auf diese Weise konnten selbst 4-proz. Pektinlösungen für die Versuche benutzt werden. Die Pektase-Wirkung war unabhängig vom Grade des Abbaues durch die Pektinase-Wirkung (Tab. 1), während Jansen, Mac Donnel und Lang[11]) eine Steigerung feststellten. Ob dieser Widerspruch durch die gänzlich anderen Reaktions- und Milieubedingungen bedingt ist, müssen

Tab. 1. Der Einfluß des durch Pektinase verschieden stark abgebauten Pektins auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Pektase.

Pektinase-Wirkung bei 20°		Pektase-Wirkung[13])	Gelierung
Zeit in Std.	Viskosität in sec.[12])	PE-E·10^{-4}	
0	207,8	0,55	+
6	124,6	0,55	+
24	69,1	0,56	+
48	58,4	0,59	(+)
72	58,4	0,50	−

weitere Untersuchungen zeigen. Auf jeden Fall sind auf diese Weise optimale Substratkonzentrationen einstellbar. Unter Umständen sind auf diese Weise standardisierte Substrate herstellbar, wenn es nicht gelingen sollte, einheitliche Substrate zu synthetisieren. Gleichzeitig war damit bewiesen, daß der Polymerisationgrad des Pektins ohne Einfluß auf die Pektasewirkung ist.

Aus diesem Grunde müssen die von uns beobachteten Unterschiede an gereinigten Pektinen[14]) auf der Eigenart der Pektinsubstanzen beruhen (Tab. 2), denn

Tab. 2. Der Einfluß des Substrates auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Pektase[15])

Substrat	Methoxylgehalt[16])	PE-E·10^{-4}
1. *Apfelpektin I* amerikan. Herkunft, Pulver	5,46	0,78
2. *Apfelpektin II* flüssig; mit Alkohol gefällt[17])	6,00	0,34
3. *Rübenpektin I* Pulver	2,86	0,21
4. *Rübenpektin II* flüssig; mit Alkohol gefällt[17])	3,60	1,21—0,49

[11]) Arch. of Biochem. 8, 113—118 (1945).

[12]) Wasserwert des Ostwald-Viskosimeters 39,3″.

[13]) Reaktionszeit 60 Min.; $p_H = 6{,}4$; Temp. 20°; nicht in NaCl aktiviert; Rübenpektin I 1%; 5 mg Ferment.

[14]) S. Morell, L. Baur u. K. P. Link, J. Biol. Chem. 105, 1 (1934).

[15]) 1 mg Ferment, $p_H = 7{,}5$; mit NaCl aktiviert; Temp. 30° C; Reaktionszeit 18 Min. Pektine: 0,375proz. Mittelwert aus 4 Messungen an verschiedenen Tagen.

[16]) Bestimmt durch Ermittlung des Methylalkoholgehaltes nach Verseifung mit NaOH und kolorimetr. Bestimmung nach v. Fellenberg[23]).

[17]) R. Ripa, Die Pektinstoffe (Braunschweig 1937) S. 112.

mit Ausnahme des Rübenpektins II war die Fermentaktivität bei den anderen Pektinen als Substrat über mehrere Tage konstant, während sich das Rübenpektin II bereits in der Pufferlösung demethoxylierte, so daß die Fermentaktivität abnahm. Da dieses Substrat überdies die größte Reaktionsgeschwindigkeit des Ferments gleich nach der Herstellung der Substratlösung zuließ, was wiederholt festgestellt werden konnte, könnte dies als verschiedenartiger Einbau der CH_3O-Gruppen gedeutet werden, wofür auch rein praktische Beobachtungen über die Gelierung sprechen[18]). Vielleicht bietet die fermentative Behandlung verschieden gewonnener Pektine einen Anhalt, in diese Verhältnisse Einblick zu gewinnen. Ein weiterer, nur als Orientierung gedachter Versuch, bei dem Apfelpulver mit Wasser unter CO_2 ausgekocht wurde, bestärkte uns in dieser Ansicht, denn der 1. Extrakt (Trockensubst. 1,6%) enthielt eine Fermentaktivität von $0{,}38 \cdot 10^{-4}$ PE-E gegenüber dem 2. Extrakt (Trockensubst. 0,6%) von $0{,}61 \cdot 10^{-4}$ PE-E.

6. Einfluß der Temperatur

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Holden[19]) an Tabak-Pektase wurde für Kohlrübenblätter-Pektase ein sehr niedriger Temperaturkoeffizient (Q_{10}) von 1,25 zwischen 20 und 30° und von 1,15 zwischen 30 und 40° gefunden.

Die Inaktivierung der Kohlrübenblätter-Pektase geht außerordentlich rasch vor sich; schon 10—20″ genügen bei 100° für völlige Inaktivierung, was in Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Kertesz[20]) an der Tomaten-Pektase steht. 5 Minuten langes Erhitzen hinterläßt bei 50° eine Restaktivität von 87%, bei 60° von 34%, 70° von 38% und bei 80° von 0% [vgl. hierzu[5])].

7. Herstellung der Pektase[21])

Die Pektase wurde abweichend von der Vorschrift von Mehlitz[22]) aus dem Saft von Kohlrübenblättern (Brassica napus var. Napobrassica) durch fraktionierte Fällung mit Aceton (bis 30 und bis 50% Gehalt) gewonnen und teilweise durch nachfolgende Ammonsulfatfällung und Dialyse weiter gereinigt. Die Dialyse wirkte sich aber nachteilig auf die Aktivität des Fermentes aus. Aus dem Eluat der zweiten Aceton-Fällung wurde das Ferment durch erneute Fällung mit Aceton abgeschieden. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator wurden aus 2 Litern Rohsaft insgesamt 14,7 g (Präparat e) eines in Wasser gut löslichen, schwach grau gefärbten Pektasepulvers erhalten, das noch nach 9 Monaten sehr gute Wirksamkeit zeigte. Für die Untersuchung wurde meist das Präparat e verwendet, das je g Fermentmaterial $1{,}06 \cdot 10^{-2}$ PE-Einheiten enthielt. Die Ammonsulfatfällung erwies sich aktiver: $1{,}44 \cdot 10^{-2}$ PE-E. Die Fermentlösungen bei 20° innerhalb 24 h behalten ihre Fermentaktivität, gleichgültig, ob sie in H_2O, n/25-$NaHCO_3$; 0,15 m-NaCl oder in einer Mischung von n/25-$NaHCO_3$ und 0,15 m-NaCl gelöst waren.

Für gewissenhafte Mithilfe bei den Untersuchungen möchte ich auch an dieser Stelle Fräulein Ingeborg Wurmbach danken.

---

[18]) Vgl. hierzu zusammenfassende Literatur: H. A. Joslyn u. H. J. Phaff, Wallerstein Labor. Comm. **10**, 39—56 (1947).

[19]) Biochem. J. **39**, 172 (1945); zitiert nach [1]).

[20]) Food Research **3**, 481 (1938).

[21]) Die Herstellung des Pektasepräparates verdanke ich meiner Mitarbeiterin Frau Dr. B. Hottenroth.

[22]) Bio. Z. 221, 217 (1930).

[23]) Bamann-Myrbäck, Methoden Fermentforschung I, 1032 (Leipzig 1941).

Berichtigungen

Band 559, S. 92, Überschrift, Zeile 3 muß es heißen: α-amino-β-mercapto-propionsäure.

Band 559, S. 95, Zeile 10 v. o.: vor „entsteht" setze (X).

Band 559, S. 96, Zeile 3 v. o. lies: $C_7H_{12}O_3S$.

Band 559, S. 97, Zeile 12 v. o lies: $C_9H_{15}O_5NS$.

Band 559, S. 100, Zeile 10 v. o.: statt IX lies X.

Band 559, S. 101, Zeile 7 v. o. statt VIII lies IX.

Band 560, S. 195, Zeile 5 v. o. muß es heißen: „Nach dem mehrmaligen Waschen mit kleinen Mengen schwach SO_2-haltigem Wasser wurden die fermenthaltigen Fällungen durch mehrmalige Behandlung mit Aceton tanninfrei gewaschen."

(Abgeschlossen am 3. Januar 1949)

Verantwortlich für die Redaktion: Prof. Dr. H. Wieland, Starnberg Obb.; für den Anzeigenteil: Anton Burger. — Verlag Chemie, GmbH. (Geschäftsführer Eduard Kreuzhage), Weinheim/Bergstr. Printed in Germany. — Druck: Druckerei G. Braun GmbH., Karlsruhe.

Ein schnell u. anhaltend wirkendes
ANTIASTHMATICUM

Asthmacoup

Neben pflanzlichen Wirkstoffen enthält jede Tablette 0,05 g Ephedrin. hydrochloric.

Packung mit 10 Tabletten DM — 90 lt. A. T. m. U.
20 1.55

Philapharm G. m. b. H.
CHEM.-PHARM. FABRIK QUEDLINBURG

E. MERCK DARMSTADT

Höchsten Anforderungen
an Reinheit und Zuverlässigkeit entsprechen unsere

Laborchemikalien
Analysenpräparate
Reagenzien

E. Merck

CHEMISCHE FABRIK · DARMSTADT

SOEBEN ERSCHIEN

F. A. HENGLEIN

Grundriß der Chemischen Technik

Ein Lehrbuch für Studierende der Chemie und des Ingenieurfaches

ein Übersichtsbuch für Chemiker und Ingenieure im Beruf

4. und 5. neu bearbeitete Auflage 1949 — gr. 4 — 636 Seiten
mit 2 farbigen und 3 einfarbigen Tafeln sowie 300 Abbildungen im Text
und 70 Tabellen — In Halbleinen DM 34.—.

Die Vorzüge des Buches sind der flüssige Stil, die lebendige Darstellung und die klare Anordnung des ungeheuren Stoffes In einem ersten Teil „Allgemeine Technologie" werden die chemisch-technischen Reaktionen Arbeitsmethoden Apparaturen Anlagen und Fabriken behandelt Am Ende dieses Abschnittes wird ein Hinweis auf den Aufbau und die Bedeutung der deutschen chemischen Industrie und die Weltkonzerne der chemischen Industrie gegeben - In dem zweiten speziellen Teil werden die chemisch technische Erzeugung von Stoffen, Veredelung von Rohstoffen der leblosen und der lebenden Natur und die Verarbeitung von Erzeugnissen der chemischen Industrie und die Anwendung ihrer Verfahrenstechnik zur Erzeugung von Gebrauchsgütern beschrieben

Schon gleich nach Erscheinen der 1 Auflage wurde in den Besprechungen der Fachzeitschriften darauf hingewiesen, daß sich das Buch durch seine Vielseitigkeit und durch das Bestreben, immer die allgemeinen Zusammenhänge im Auge zu behalten vorteilhaft auszeichne Wesentliche Änderungen und eine beträchtliche Erweiterung des Umfangs sind die Merkmale dieser neubearbeiteten Auflage Dies entspricht der raschen Entwicklung der chemischen Technik in den letzten Jahren Weniger wichtige oder alte Verfahren wurden kürzer behandelt, die neuesten Verfahren dagegen, über die sich im Schrifttum nur verstreut Mitteilungen finden eingehend beschrieben Obwohl neue Abschnitte eingefügt worden sind konnte doch die frühere bewährte Grundeinteilung beibehalten werden So wird sicherlich auch diese neue Bearbeitung des Werkes viele Freunde und Leser finden

VERLAG CHEMIE, GMBH · WEINHEIM/BERGSTR.

Emulgiermaschine

„ZENITH"

D. R. P. u. Auslandspat.

3 Typen von ca. 30 bis 600 Lit. Stundenleistung zur Herstellung von Seifen, Salben, Linimenten, Aromen und Weichkrem sowie Lebertran- u. Lack-Emulsionen usw.

Einfache Handhabung
Hohe Qualität

Wilhelm Steinhorst
Leipzig N 22
Ehrensteinstr. 49

Gebrüder Klees

Fabrik für Laboratoriums-Einrichtungen

Düsseldorf

Sondergebiete:

1. elektrische Öfen, Trockenschränke, Potentiometer
2. glastechnische Apparate
3. Laboratoriums-Möbel in Holz- u. Eisenkonstruktion

An unsere Leser!

Von den Bänden 557 ff. dieser Zeitschrift sind noch Restbestände vorhanden. Eine Nachlieferung (auch von Einzelheften) ist daher noch möglich.

Neuerdings können unsere Zeitschriften auch ins Ausland geliefert werden.

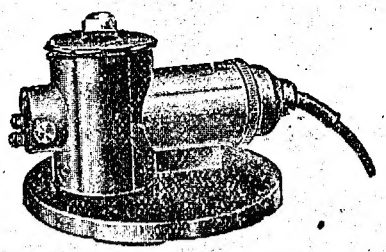
Weisen Sie bitte Ihre Freunde und Bekannten auf diese Möglichkeit hin.

Nähere Auskünfte werden gern von uns erteilt.

Auf Wunsch können wir Ihren Auslandsfreunden auch Probehefte senden.

VERLAG CHEMIE, GmbH.
Weinheim an der Bergstraße

Lichtelektrisches Becherglas-Kolorimeter



mit Reagenzglas-Einsatz
kurzfristig lieferbar
ebenso, Photoelemente, Luxmeter und Ultra-Relais

DR. B. LANGE

Spezialfabrik lichtelektrischer Zellen und Apparate · Berlin-Zehlendorf, Hermannstr. 14-18 · Tel. 848122

CHEMIKALIEN
für Pharmazie und Technik

REAGENZIEN
in höchster Reinheit

FIXANAL-SUBSTANZEN
für die Maßanalyse

RIEDEL-DE HAËN A.-G. SEELZE BEI HANNOVER

SÄURESCHUTZBAU HOTTELET & CO K.-G.
BERLIN-ZEHLENDORF, MÖLLERPFAD 5 / TEL. 731429